

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Щёкина Вера Битальевна
Должность: Ректор
Дата подписания: 06.04.2023 07:19:55
Уникальный программный ключ:
a2232a55157e57b551a8999b1190892a753989420420336ffbf573a434a57789

	МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Благовещенский государственный педагогический университет»
	ОСНОВНАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА Рабочая программа дисциплины

УТВЕРЖДАЮ

**Декан естественно-географического
факультета ФГБОУ ВО «БГПУ»**

И.А. Трофимцова
«25» мая 2022 г.

**Рабочая программа дисциплины
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ**

**Направление подготовки
44.03.05 ПЕДАГОГИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ
(с двумя профилями подготовки)**

**Профиль
«БИОЛОГИЯ»**

**Профиль
«ФИЗИЧЕСКАЯ КУЛЬТУРА»**

**Уровень высшего образования
БАКАЛАВРИАТ**

**Принята на заседании кафедры химии
(протокол № 8 от «25» мая 2022 г.)**

Благовещенск 2022

СОДЕРЖАНИЕ

1 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА	3
2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ	4
3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ (РАЗДЕЛОВ)	6
4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ И (ИЛИ) УКАЗАНИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ	10
5 ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ	11
6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ (САМОКОНТРОЛЯ) УСВОЕННОГО МАТЕРИАЛА.....	35
7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ	46
8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ	47
9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ	47
10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА	48
11 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ	50

1 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

1.1 Цель дисциплины: сформировать фундаментальные знания о молекулярных основах жизни, необходимых при подготовке современного учителя биологии.

1.2 Место дисциплины в структуре ООП: Дисциплина «Молекулярная биология» относится к дисциплинам предметно-методического модуля по профилю «Биология» обязательной части блока Б1 (Б1.О.08.10).

Содержание дисциплины базируется на знаниях химии, цитологии, изученных на предыдущих курсах. Материал дисциплины широко используется при изучении дисциплин «Физиология животных и человека», «Физиология растений», «Цитогенетика», «Генетика».

1.3 Дисциплина направлена на формирование следующих компетенций: УК-1; ОПК-8, ПК-2:

- **УК-1.** Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач, **индикатором** достижения которой является:

- УК-1.2 Находит и критически анализирует информацию, необходимую для решения поставленной задачи.

- **ОПК-8.** Способен осуществлять педагогическую деятельность на основе специальных научных знаний, **индикатором** достижения которой является:

- ОПК-8.3 Демонстрирует специальные научные знания, в том числе в предметной области.

- **ПК-2.** Способен осуществлять педагогическую деятельность по профильным предметам (дисциплинам, модулям) в рамках программ основного общего и среднего общего образования, **индикатором** достижения которой является:

- ПК-2.1 Применяет основы теории фундаментальных и прикладных разделов биологии (ботаники, зоологии, микробиологии, молекулярной биологии, генетики, биологии развития, анатомии человека, физиологии растений и животных, общей экологии, теории эволюции) для решения теоретических и практических задач.

1.4 Перечень планируемых результатов обучения. В результате изучения дисциплины студент должен

- **знать:**

- химические основы функционирования живых систем;
- состав и свойства основных макромолекул, входящих в состав живого организма;
- основную догму молекулярной биологии и роль макромолекул в реализации генетической информации;

- современные методы исследования живой материи;

- методы статистической обработки данных и оценки достоверности результатов;

уметь:

- проводить эксперимент с участием макромолекул, анализировать результаты и делать выводы об изменениях, происходящих в живых системах;

владеть:

- представлениями о молекулярных основах жизни и о тех конкретных путях, которыми живая природа решает важнейшие задачи хранения, передачи и реализации генетической информации.

- современными методами молекулярных исследований.

1.5 Общая трудоемкость дисциплины «Молекулярная биология» составляет 5 зачетных единиц (далее – ЗЕ) (180 часов).

Программа предусматривает изучение материала на лекциях и лабораторных занятиях. Предусмотрена самостоятельная работа студентов по темам и разделам. Проверка знаний осуществляется фронтально, индивидуально.

1.6 Объем дисциплины и виды учебной деятельности

Объем дисциплины и виды учебной деятельности (очная форма обучения)

Вид учебной работы	Всего часов	Семестр 10
Общая трудоемкость	180	180
Аудиторные занятия	72	72
Лекции	28	28
Лабораторные работы	44	44
Самостоятельная работа	72	72
Вид итогового контроля:	36	Экзамен (36)

2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ

2.1 Очная форма обучения

Учебно-тематический план

№	Наименование тем (разделов)	Всего часов	Аудиторные занятия		Самостоятельная работа
			Лекции	Лабораторные	
1	Раздел 1. Введение. Предмет и задача молекулярной биологии. Современные методы исследований. Клетка – функциональная единица живого. Разделение клеточных компартментов. Роль воды и микро-среды в которой функционируют макромолекулы. Буферные растворы. Строение и функции надмолекулярных комплексов. Мембраны. Лаб. раб. 1 Химический состав клетки. Методы экстракции. Центрифугирование. Лаб. раб. 2. Растворы. Лаб. раб. 3. Спектрофотометрия. Лаб. раб. 4-7. Хроматография. Лаб. раб. 8. Электрофорез.	28	4	16	8
2	Раздел 2 Структурная организация белков. 1, 2, 3 и 4 структуры белков. Факторы, определяющие стабильность белковой молекулы. Лаб. раб. 9-10. Методы обнаружения белков (биуретовый, э/ф. хроматография). Лаб. раб. 11. Ферменты.	18	4	6	8
3	Раздел 3 Структура генома про- и эукариот Современные представления о структуре нуклеиновых кислот. Гены. Генетический код Первичная и вторичная структура ДНК. Динамичность генома. Третичная структура ДНК. Белки хроматина и его упаковка. Лаб. раб. 12: Выделение ДНК из дрожжей. Рибонуклеиновые кислоты. Их виды, строение и биологическая роль. Лаб. раб. 13: Выделение, гидролиз и анализ нуклеотидного состава РНК. Лаб. раб. 14: Секвенирование.	24	8	6	10
4	Раздел 4. Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Биосинтез ДНК, РНК и белка. Виды переноса генетической информации. Особенности	28	4	8	16

	передачи генетической информации прокариот. ПЦР-анализ. Лаб. раб.15: Выделение ДНК и ее обнаружение методом ПЦР-анализа. Лаб. раб.16: ПЦР-анализ. Обнаружение трансгенов. Лаб. раб. 17. Электрофорез плазмидной ДНК. Лаб. раб. 18. Генетическое дактилоскопирование				
5	Раздел 5. Основные механизмы клеточной саморегуляции. Основные механизмы клеточной саморегуляции. Программа «Геном человека» и генетически детерминируемые болезни Вредные привычки (алкоголизм, наркомания, курение) и их влияние на биохимические процессы в организме. Лаб. раб. 19. Низкомолекулярные метаболиты	20	2	2	16
6	Раздел 6. Молекулярная биология как основа биотехнологии. Основы генетической инженерии. Гены маркеры. Молекулярное клонирование. Лаб. раб. 20. Приготовление питательной среды. Лаб. раб. 21-22. Получение каллусной ткани из листьев.	26	6	6	14
7	Итого	144	28	44	72
8	<i>Экзамен</i>	36			
9	ИТОГО	180	28	44	72

Интерактивное обучение по дисциплине

№	Наименование тем (разделов)	Вид занятия	Форма интерактивного занятия	Кол-во часов
1	Раздел 1. Введение. Клетка – элементарная единица живого.	ЛК	Лекция-беседа	2ч.
2	Раздел 1. Введение. Современные методы исследования. Лаб. раб. 5. Хроматография.	ЛР	Работа в малых группах	2ч
3	Раздел 2. Структурная организация белков. Строение глобулярных белков	ЛК	Лекция с ошибками	2 ч
4	Раздел 3. Структура генома про- и эукариот. Строение нуклеиновых кислот.	ЛК	Лекция-дискуссия	4 ч
5	Раздел 4. Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Репликация.	ЛК	Лекция-дискуссия	2
6	Раздел 4. Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Лаб. раб. 15-16. ПЦР-анализ.	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
	ИТОГО			16 ч

3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ (РАЗДЕЛОВ)

Раздел 1 Введение

Молекулярная биология изучает явления жизни на атомно-молекулярном уровне. Цели и задачи молекулярной биологии. Предпосылки ее возникновения. Роль для развития биохимии, генетики, биотехнологии, экологии, медицины, физиологии, сельского хозяйства и других наук.

Клетка – элементарная единица живого

Современные представления о химическом составе и структуре клетки. Основное вещество цитоплазмы – гиалоплазма – внутренняя среда клетки.

Мембраны клетки и их функции. Молекулярная организация мембран: модель трехслойной липопротеидной мембраны, мозаично-жидкостная (динамическая) модель.

Эндоплазматическая сеть, ее строение и функции (синтез полисахаридов и липидов, накопление и транспорт этих веществ, изоляция и нейтрализация веществ, поступающих в клетку, участие в синтезе белков).

Роль комплекса Гольджи в синтезе веществ, образовании лизосом и формировании плазматической мембраны. Химическая организация лизосом и их участие во внутриклеточном переваривании пищи.

Строение рибосом, их химическая организация и участие в биосинтезе белков.

Митохондрии и их характеристика (размеры, форма, количество, локализация в клетке). Ультраструктурная организация митохондрий: наружная и внутренняя мембраны, кристы, матрикс. Функции митохондрий.

Типы пластид клеток растений: хлоропласты, хромопласты, лейкопласты, пропластиды и их функции. Ультраструктура хлоропластов: наружная и внутренняя мембраны, грани, межграницы пластины (мембраны), матрикс хлоропластов. Строение микротрубочек, их химический состав и функции в клетке.

Строение и функции клеточного центра. Клеточное ядро (размеры, форма) и его химический состав. Значение ядра в жизнедеятельности клетки. Основные структурные компоненты ядра: ядерная оболочка, ядерный сок, хромосомы (хроматин), ядрышко.

Современные методы исследования молекулярной биологии и их значение для изучения молекулярных основ жизни. Микроскопия. Роль светового и электронного микроскопов в изучении тонкой структуры клеток и надмолекулярных образований. Использование метода ультрацентрифугирования для разделения органелл и макромолекул. Виды хроматографии и применение для разделения смесей. Электрофорез – надежный метод фракционирования белков и нуклеиновых кислот в электрическом поле. Изучение клеточных макромолекул с помощью антител и радиоактивных изотопов. ПЦР-анализ. Основы генетической инженерии: рестрикционный анализ, клонирование, гибридизация, определение нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК. Технология рекомбинантных ДНК. Инструменты генетических инженеров. Химический синтез генов, создание искусственных генетических программ. Роль биоинформатики в изучении молекулярных основ жизни

Раздел 2 Структурная организация белков

Методы электрофореза и хроматографии в изучении структуры белков. Рентгеноструктурный анализ белков. Структурные модели полипептидных белков. Модели полипептидов Поллинга и Кори. Конформационные свойства полипептидных цепей. Пространственное строение синтетических полипептидов.

Кристаллографический анализ белков. Рентгеноструктурный анализ глобулярных белков. Нейтронная кристаллография белков.

Факторы, определяющие стабильность белковой молекулы. Водородные связи. Ван-дерваальсовы и электростатические взаимодействия. Гидрофобные взаимодействия. Идентификация вторичной структуры. Стабильные конформационные состояния белков. Нативное и денатурированное состояния белков. Супервторичные структуры и домены.

Третичная структура глобулярных белков. Расшифровка третичной структуры глобулярных белков экспериментальными методами. Банки данных. Гидрофобное ядро, полярная оболочка, доменная и субъединичная структуры белков. Эмпирические закономерности структуры белков.

Фолдинг белков. Процесс самоорганизации полипептидной цепи. Спонтанность и скорость формирования нативной структуры. Направленность сворачивания. Термодинамика и кинетика сворачивания. Роль белков семейства шаперонов в поддержании третичной структуры белков. Экспериментальное изучение и модели укладки. Расчет пространственной структуры глобулярных белков на основе моделирования процесса самоорганизации. Связь структуры и функции белков.

Ферменты простые и сложные. Зависимость их строения и функций. Множественные формы ферментов.

Эволюция белков.

Раздел 3 Структура генома про- и эукариот

Хромосомы – основные структурные и функциональные компоненты ядра. Состав и структура хроматина. Химическая организация: нуклеиновые кислоты и белки. История открытия и изучения нуклеиновых кислот. Доказательства генетической роли ДНК. Методы ее экстракции из биологического материала и способы депротеинизации.

ДНК – носитель наследственной информации и изменчивости. Современные представления о структуре гена. Что такое ген с генетической, биохимической и молекулярной точек зрения. Центральная догма молекулярной биологии. Эволюция понятия один ген – один фермент. Проблема генетического кода. Основные этапы его изучения. Общие свойства генетического кода. Гипотеза качания. РНК-аминокислотный код.

Первичная структура ДНК. Полипуриновые и полипиримидиновые фрагменты в молекулах ДНК и их сблоченность. Работы А.Н. Белозерского. Секвенирование ДНК.

Структура геномов прокариот. ДНК и РНК содержащие вирусы и фаги. Строение нуклеотида. Картирование хромосом бактерий и фагов. Плазмиды. Строение вирусов и их классификация. Проникновение вирусов в клетку.

Структура эукариотических генов. Уникальные гены. Повторяющиеся гены и их биологическая роль. Умеренно повторяющиеся последовательности. Сателлитная ДНК. Палиндромы. Прерывистое строение генов. Значение их в эволюции.

Подвижные генетические элементы генома прокариот и эукариот и эволюция геномов. Бактериальные плазмиды, IS-элементы, транспозоны бактерий и концепция «эгоистической ДНК». Образование коинтеграгов. Механизм перемещения мобильных элементов бактерий. Элементы генома эукариот, представляющие собой продукт обратной транскрипции клеточных РНК (ретропозоны и псевдогены). Подвижные элементы с длинными концевыми повторами (ретротранспозоны). Молекулярные основы мутаций и канцерогенеза. Механизмы индукции опухолевой трансформации клетки. Апоптоз – программируемая клеточная гибель.

Гомеозисные гены. Неядерные геномы. ДНК митохондрий и хлоропластов.

Вторичная структура ДНК. Правила Э. Чаргаффа. Модель двойной спирали ДНК Дж. Уотсона и Ф. Крика. Принцип комплементарности пуриновых и пиримидиновых оснований структуре ДНК. Природа сил, удерживающих молекулу ДНК в биспиральном состоянии. Полиморфизм двойной спирали ДНК.

Физико-химические свойства ДНК. Молекулярная масса, вязкость, оптические свойства, гипохромный эффект, упругость. Денатурация или плавление молекул ДНК. Плавающая плотность. Метод реассоциации в изучении генома эукариот.

Третичная структура ДНК бактерий и вирусов. Сверхспирализация. Третичная структура ДНК и особенности организации хроматина в эукариотических клетках. Гистоны и негистоновые белки. Нуклесомы. Организация нуклеосомных фибрилл. Конденсация

хроматина и его доменная организация. Метафазные хромосомы. Структура активного хроматина. Понятие о гетеро- и эухроматине.

Рибонуклеиновые кислоты, их классификация (тРНК, рРНК, иРНК, яРНК, вРНК). Сравнительная характеристика видов РНК по молекулярной массе, нуклеотадному составу, локализации и функциям. тРНК, методы их выделения и фракционирования. Изоакцепторные тРНК. Минорные основания тРНК и их значение. Первичная структура тРНК, работы А.А. Баева. Вторичная структура тРНК (модель «клеверный лист»); функциональное значение некоторых участков тРНК, выявленное методом «хирургии молекул» (В. А. Энгельгард, А.А. Баев). Третичная структура тРНК по данным рентгеноструктурного анализа кристаллических препаратов, рРНК, ее содержание и локализация в клетке. Виды рРНК (23S, 16S и 5S) и их функции. Первичная структура 5S рРНК и 16S рРНК. Закономерности первичной структуры высокомолекулярных рРНК; вторичная и третичная их структуры (рибосомы А.С. Спирина). иРНК, история ее открытия (А.Н. Белозерский и А.С. Спирин). Характерные особенности (молекулярная масса, ДНК-подобие, быстрая обмениваемость) бактериальной иРНК. Свойства иРНК высших организмов. иРНК как матрица для специфического биосинтеза белков. Ядерная РНК, молекулярная масса, локализация в ядре. Вирусные и фаговые РНК, успехи в исследовании их структуры и функции. Новый класс РНК, регулирующих активность ферментов.

Раздел 4 Молекулярные механизмы передачи наследственной информации

Перенос вещества, энергии и информации. Виды передачи генетической информации (репликация, транскрипция и трансляция) и их матричный механизм.

Биосинтез нуклеиновых кислот (репликация ДНК). Консервативный и полуконсервативный механизм репликации ДНК (работы М. Мезельсона и Сталя). Комплементарный механизм, обеспечение специфичности воспроизведения первичной структуры при биосинтезе ДНК.

ДНК-полимеразы и их функции. Основные принципы репликации. Инициация цепей ДНК. Расплетание двойной спирали ДНК в ходе репликации. Белки, принимающие участие в инициации. Роль праймера. Этап элонгации и прерывистый (челночный) синтез ДНК, фрагменты Оказаки. ДНК-лигазы. Реплисома. Повреждения и репарация ДНК. Метилирование и рестрикция. Репликация различных ДНК и её регуляция. Теломерные последовательности ДНК.

Повреждения и репарация ДНК.

Биосинтез рибонуклеиновых кислот (транскрипция). Строение и функции РНК-полимеразы. Роль промоторных участков оперона. Цикл транскрипции (связывание с ДНК, инициация цепи РНК, элонгация, терминация).

Структура транскриптов и регуляция транскрипции у про- и эукариот. Процессинг первичных транскриптов. Различия процессинга прокариот и эукариот. Полицистронный механизм биосинтеза РНК. Информосомы (работы А.С. Спирина) и информомеры (работы Г.П. Георгиева) как первичные формы существования новообразованных РНК. Сплайсинг и его виды. Рибозимы. Обратная транскрипция.

Биосинтез белка в клетке. Матричный и нематричный механизмы и их соотношение. Строение и функции рибосом. Аминоацильный и пептидилтрансферазный центры. Активация аминокислот и связывание их с определенными тРНК. Характеристика аминокислот-тРНК-синтетаз: молекулярная масса, специфичность, лабильность, число оборотов, локализация в клетке, аллостерическая регуляция активности при посредстве тРНК. Аминоацил-тРНК, их структура, свойства и функции. Белковые факторы биосинтеза белка. Этап инициации и образование транслирующей рибосомы.

Этапы элонгации. Поступление аминокислот-тРНК в рибосому. Кодон - антикодонное взаимодействие. Реакция транспептидирования. Ее химизм и энергетика. Транслокация. Передвижение матрицы при транслкации. Терм и нация. Кодоны терминации и после-

довательность событий. Посттрансляционные изменения (сворачивание, компартиментализация и модификация белков). Синтез коллагена. Белковая инженерия. Внеклеточный синтез белков.

Передача наследственной информации у прокариот. Транскрипция и репликация генетического материала. ДНК и РНК содержащие вирусов. Рекомбинация у микроорганизмов. Трансформация, трансдукция, конъюгация и их особенности. Эписомы бактерий.

Раздел 5 Основные механизмы клеточной саморегуляции

Уровни регуляции жизненных процессов в живой природе: метаболитный, оперонный, клеточный, организменный и популяционный.

Метаболитный уровень регуляции. Регуляция ферментативных процессов за счет изменения активности ферментов: неспецифическая (температура, pH, ионная сила и т.д.) и специфическая (изостерическая и аллостерическая), регуляция обмена синтеза ферментов (индукция и репрессия).

Оперонный уровень регуляции. Строение оперона. Роль промотора, оператора и гена регулятора. Энхансеры. Механизм действия лактозного оперона. Катаболитная репрессия и роль цАМФ. Механизм действия триптофанового оперона. Аттенуация. Принцип обратной связи в регуляции обмена веществ.

Клеточный уровень регуляции. Проницаемость плазматической и клеточной мембран. Транспорт метаболитов в клетке. Ядерно-цитоплазматические отношения в клетке. Регуляция экспрессии генов путем альтернативного сплайсинга. Транс-сплайсинг. Регуляция при трансляции и посттрансляционном уровне.

Банки нуклеотидных последовательностей, программа «Геном человека». Геномная дактилоскопия. Генетически детерминированные болезни. Подразделение болезней в соответствии с уровнем структурных повреждений. Заболевания, обусловленные повреждениями на уровне отдельных генов. Нарушения экспрессии генов на различных уровнях как причина наследственных болезней. Генный, транскрипционный, трансляционный и посттрансляционный уровни.

Раздел 6. Молекулярная биология как основа биотехнологии

Основные этапы и направления развития биотехнологии. Объекты биотехнологии (вирусы и бактерии, высшие растения и животные *in vivo* и *in vitro*).

Клеточная и тканевая инженерия растений. Клетка как основа жизни биологических объектов. Каллусные культуры растений. Суспензионные культуры растений. Изолированные протопласты. Морфогенез в клеточных культурах растений. Клональное микроразмножение растений и его практическое применение. Методы клеточной инженерии растений в ускорении селекционного процесса. Вспомогательные методы *in vitro* в селекции растений. Основные методы *in vitro* в селекции растений. Коллекции и криобанки клеточных культур

Молекулярные основы генетической инженерии. Ферменты. Определение нуклеотидной последовательности (секвенирование) ДНК. Конструирование фрагментов рекомбинантных ДНК («сшивки»). Гибридизация – метод выявления специфических последовательностей нуклеотидов. Методы клонирования ДНК (клонирование ДНК *in vivo*, амплификация ДНК *in vitro*). Введение нового (рекомбинантного) гена в клетку. Методы прямого переноса генов в клетку.

Основные этапы создания трансгенных организмов. Генетическая инженерия прокариот и эукариот (растений и животных). Достижения генетической инженерии растений (изменение пищевой ценности растений, создание гербицидоустойчивых растений, повышение устойчивости к насекомым, к стрессовым условиям, эффективности биологической азотфиксации и фотосинтеза, изменение окраски цветков у декоративных растений, регуляция сроков созревания и хранения плодов, повышение урожайности, регуляция скорости роста) и животных (трансгенные животные как модели наследственных заболеваний человека, трансгенные животные с выключенными генами (генный нокаут), генетическая

трансформация соматических клеток животных, клонирование животных). Редактирование генома. Технология CRISPR-Cas-9.

Основы промышленной биотехнологии и получение первичных (белковые продукты, аминокислоты, гормоны, инсулин, витамины, интерфероны, вакцины, антибиотики) и вторичных метаболитов. Энзиматическая инженерия. Иммобилизованные ферменты. Биосенсоры и биочипы.

Экологическая биотехнология (утилизация твердых отходов, очистка сточных вод и газовоздушных выбросов, биоремедиация). Основные направления развития нанобиотехнологии и возможные риски, связанные с их использованием.

Биобезопасность и государственный контроль.

4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ И (ИЛИ) УКАЗАНИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Дисциплина «Молекулярная биология» развивает познавательный интерес студентов в области биологии на базе фундаментальных химических знаний. При его проведении широко используются межпредметные связи.

Исключительная динамичность развития молекулярной биологии обуславливает постоянную работу студента с дополнительным материалом. За последние годы произошли огромные сдвиги в изучении строения и функций соединений, составляющих основу живой материи. Поэтому при подготовке к занятиям необходимо больше уделить внимания строению нуклеиновых кислот, как носителей жизни, а также на принцип комплементарности в строении нуклеиновых кислот и его значение в матричном биосинтезе природных полимеров.

Обратить особое внимание на развитие новых направлений в молекулярной биологии, (в медицине – наследственные болезни и биохимическая диагностика, в сельском хозяйстве – биохимическая паспортизация генетического фонда, экологическая биохимия, клеточная инженерия трансгенные организмы, в промышленном производстве – инженерная энзимология, микробиологический синтез, нанотехнологии).

Важнейшей формой деятельности студента является выполнение лабораторных работ. Внедрение современных методов исследования в биохимии требует современного оборудования и высокоточных приборов, умения очень квалифицированно провести исследование.

В лабораторный практикум включены такие современные методы исследований в молекулярной биологии как центрифугирование, фотокolorиметрия, электрофорез, хроматография, ПЦР-анализ. Студент должен на занятиях по молекулярной биологии не только выполнять лабораторную работу, но и правильно интерпретировать полученные результаты. Необходимо по каждой теме подготовить теоретический материал, в том числе прочитать дополнительную литературу. Для развития самостоятельной работы студентов к каждому занятию разработаны серии, в которых предлагается изучение сложного фактического материала. На каждом занятии осуществляется самоконтроль, в который включены базовые вопросы курса.

Самостоятельная работа проводится с целью углубления знаний по дисциплине и предусматривает чтение студентами рекомендованной литературы и усвоение теоретического материала дисциплины; подготовку к лабораторным работам, выполнению тестовых заданий и сдаче экзамена.

Важными в изучении современной молекулярной биологии являются философские, социальные и морально-этические аспекты, такие как проблема сущности жизни, перспективы развития генетической инженерии, манипуляции генами, организация здорового образа жизни, которые обеспечивают необходимый уровень подготовки будущих учителей для преподавания в средней школе.

Для расширения знаний по дисциплине рекомендуется использовать Интернет-ресурсы: проводить поиск информации в рекомендованных ниже базах данных.

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы студентов по дисциплине

№	Наименование раздела (темы)	Формы/виды самостоятельной работы	Количество часов, в соответствии с учебно-тематическим планом
1.	Раздел 1. Введение.	Изучение основной и дополнительной литературы. Выполнение письменной самостоятельной работы (серии). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчета по лабораторным работам. Подготовка к тестированию.	8
2.	Раздел 2 Структурная организация белков.	Изучение основной и дополнительной литературы. Конспектирование изученных источников. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий) и к контрольной работе. Оформление лабораторных работ. Подготовка отчета по лабораторным работам.	8
3	Раздел 3 Структура генома про- и эукариот	Изучение основной и дополнительной литературы. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчетов по лабораторным работам и к контрольной работе.	10
4	Раздел 4. Молекулярные механизмы передачи генетической информации.	Изучение основной и дополнительной литературы. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий) Подготовка отчетов по лабораторной работе и к контрольной работе.	16
5	Раздел 5. Основные механизмы клеточной саморегуляции.	Изучение основной и дополнительной литературы. Написание эссе. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчетов по лабораторным работам.	16
6	Раздел 6. Молекулярная биология как основа биотехнологии.	Изучение основной и дополнительной литературы. Написание реферата. Подготовка письменных самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчетов по лабораторным работам. Подготовка к тестированию.	14
	Итого		72

5 ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ**Тематический план лабораторных занятий**

№	Тема	Кол-во часов
1.	Раздел 1. Введение. Предмет и задача молекулярной биологии. Современные методы исследований. Клетка – функциональная единица живого. Разделение клеточных компартментов. Лаб. раб. 1 Химический	16

	состав клетки. Методы экстракции. Центрифугирование. Лаб. раб. 2. Растворы. Роль воды и микросреды в которой функционируют макромолекулы. Буферные растворы. Лаб. раб. 3. Спектрофотометрия. Лаб. раб. 4-5. Хроматография. Лаб. раб. 6. Разделение углеводов. Лаб. раб. 7. Строение и функции надмолекулярных комплексов. Мембраны. Лаб. раб. 8. Электрофорез.	
2	Раздел 2 Структурная организация белков. 1, 2, 3 и 4 структуры белков. Факторы, определяющие стабильность белковой молекулы. Лаб. раб. 9-10. Методы обнаружения белков (биуретовый, э/ф. хроматография). Лаб. раб. 11. Ферменты.	6
3	Раздел 3 Структура генома про- и эукариот Современные представления о структуре нуклеиновых кислот. Гены. Генетический код Первичная и вторичная структура ДНК. Динамичность генома. Третичная структура ДНК. Белки хроматина и его упаковка. Физико-химические свойства ДНК. Лаб. раб. 12: Выделение ДНК из дрожжей. Рибонуклеиновые кислоты. Их виды, строение и биологическая роль. Лаб. раб. 13: Выделение, гидролиз и анализ нуклеотидного состава РНК. Лаб. раб. 14: Секвенирование.	6
4	Раздел 4. Молекулярные механизмы передачи генетической информации. Биосинтез ДНК, РНК и белка. Виды переноса генетической информации. Особенности передачи генетической информации прокариот. ПЦР-анализ. Лаб. раб.15. Выделение ДНК и ее обнаружение методом ПЦР-анализа. Лаб. раб.16. ПЦР-анализ. Обнаружение трансгенов. Лаб. раб. 17. Электрофорез плазмидной ДНК. Лаб. раб. 18. Генетическое дактилоскопирование	8
5	Раздел 5. Основные механизмы клеточной саморегуляции. Основные механизмы клеточной саморегуляции. Программа «Геном человека» и генетически детерминируемые болезни Вредные привычки (алкоголизм, наркомания, курение) и их влияние на биохимические процессы в организме. Лаб. раб. 19. Низкомолекулярные метаболиты.	2
6	Раздел 6. Молекулярная биология как основа биотехнологии. Основы генетической инженерии. Гены маркеры. Молекулярное клонирование. Лаб. раб. 20. Приготовление питательной среды. Лаб. раб. 21-22. Получение каллусной ткани из листьев.	6

Содержание лабораторных работ

Раздел 1. ВВЕДЕНИЕ

Лабораторная работа № 1

Тема: Современные методы исследований.

Химический состав клетки. Методы экстракции. Центрифугирование.

Цель: познакомиться с методами экстракции и центрифугирования.

Объект исследования: капуста, томат, соя, мясо, виноград.

Опыт 1. Получение экстрактов

а) Получение экстракта капусты

Навеску капусты 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

б) Получение экстракта томата

В цельном плоде томата скальпелем или ножом делают надрез и выпускают околосеменную жидкость. Затем ее процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

в) Получение экстракта мышечной ткани

Навеску мышечной ткани 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

г) Получение экстракта винограда.

Навеску ягод винограда 5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 15 мл дистиллированной воды и в течение 10 минут гомогенизируют, затем экстракт центрифугируют при 3 тыс. об/мин (10 минут) или процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

Опыт 2. Получение экстрактов растворимых белков из семян сои. Центрифугирование.

Для получения экстрактов белков семян сои навеску материала (500-700 мг или 5 семян) гомогенизировать в фарфоровых ступках в течение 15 мин при температуре $0+5^{\circ}\text{C}$ (ступки ставят в кристаллизаторы со льдом). Растворимые белки экстрагировать 0,15М раствором хлорида натрия. На 5 семян взять 15 мл раствора хлористого натрия (через 5 минут вносить по 5 мл 3 раза).

Полученный экстракт внести в центрифужные пробирки, уравновесить и центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10 минут. Осадок отбросить, а надосадочную жидкость отфильтровать через слой капроновой ткани для удаления липидной пленки и использовать для дальнейшего анализа.

Выводы:

Лабораторная работа № 2

Тема: Современные методы исследований.

Растворы.

Цель: познакомиться с методами приготовления буферных растворов, выделения (центрифугирования) и обнаружения веществ в растительных и животных объектах (фотоколориметрия).

Объект исследования: кровь, капуста, томат, соя, дрожжи, мясо, виноград, красное вино.

Опыт 1. Приготовление растворов хлорида натрия

а) Приготовьте 500 мл 0,15М, 0,15н и 0,15 %-ного раствора хлорида натрия

б) Приготовьте 250 мл 1М, 1н и 1 %-ного раствора хлорида натрия

в) Приготовьте 250 мл 2М, 2н и 2 % раствора хлорида натрия

г) Приготовьте физиологический раствор

Опыт 2. Приготовление ацетатного буфера

Приготовьте исходные растворы, 1н раствор уксусной кислоты и 1н раствор гидроксида натрия.

Для приготовления буферного раствора требуемого значения рН отмеряют указанный объем 1н раствора уксусной кислоты (см. таблицу), прибавляют 50 мл раствор гидроксида натрия и разбавляют дистиллированной водой до 500 мл.

Таблица

рН	CH ₃ COOH (1н, мл)	рН	CH ₃ COOH (1н, мл)	рН	CH ₃ COOH (1н, мл)
3,8	421,5	4,67	100,0	5,5	57,4
3,9	345,1	4,7	96,8	5,6	55,9
4,0	284,4	4,8	87,2	5,7	54,7
4,1	236,2	4,9	79,5	5,8	53,7
4,2	197,9	5,0	73,4	5,9	53,0
4,3	167,4	5,1	68,6	6,0	52,3
4,4	143,3	5,2	64,8	6,1	51,9
4,5	124,1	5,3	6,7	6,2	51,5
4,6	108,9	5,4	69,3	6,3	51,2

Опыт 3. Приготовление 0,1М фосфатного буфера

Исходные растворы: а) 0,2М $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ б) 0,2М $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

pH	0,2М Na_2HPO_4	0,2М NaH_2PO_4	pH	0,2М Na_2HPO_4	0,2М NaH_2PO_4
5,8	8,0	92,0	7,0	61,0	39,0
6,0	12,3	87,7	7,2	72,0	28,0
6,2	18,5	81,5	7,4	81,0	19,0
6,4	26,5	73,5	7,6	87,0	13,0
6,6	37,5	62,5	7,8	91,5	8,5
6,8	49,0	51,0	8,0	94,7	5,3

После приготовления раствор разбавляют водой до 200 мл.

Выводы:**Лабораторная работа № 3**

Тема: Современные методы исследований. Спектрофотометрия.

Цель: познакомиться с методами обнаружения веществ в растительных и животных объектах (спектрофотометрия).

Объект исследования: красный виноград, красное вино.

Оборудование: фотоэлектроколориметр; кюветы, $l = 2$ см, 2 шт; колбы мерные на 100 мл; пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 мл; фильтры обеззоленные, синяя лента;

Реактивы: основной стандартный раствор железа $\text{FeCl}_3 - 0,1$ г/дм³ (0,1%); пероксид водорода – 30%-ный раствор; серная кислота – 100 г/л., раствор гексацианоферрата(II)калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (10%), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, HCl (разб. в 2 раза).

Опыт 1: Определение содержания железа в вине или винограде колориметрическим методом

Метод основан на измерении интенсивности окраски раствора комплексного соединения трехвалентного железа с гексацианоферратом калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Построение градуировочного графика. В семь мерных колб вместимостью 100 см³ вносят 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 см³ основного стандартного раствора железа. В каждую колбу добавляют 5 см³ раствора HCl ; одну каплю раствора H_2O_2 ; 4 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят без добавления раствора железа.

Через 30 минут измеряют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр).

Проведение опыта. 1. Вино фильтруют через складчатый фильтр. В 3 мерные колбы вместимостью 100 см³ отбирают пипеткой по 5 см³ вина. В каждую колбу добавляют по 5 см³ раствора HCl , одну каплю раствора H_2O_2 , 4 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят $A_{\text{ср}}$.

2. В две мерные колбы на 50 мл отбирают пипеткой по 2,5 см³ экстракта ягод винограда. В каждую колбу добавляют по 2,5 см³ раствора HCl , одну каплю раствора H_2O_2 , 2 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Доводят до метки (50 мл) дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят $A_{\text{ср}}$.

По градуировочному графику определяют концентрацию железа (мг/дм^3) в исследуемых растворах.

Расчет результатов анализа. Концентрацию железа в образце вина (или винограда) (мг/л) рассчитывают по формуле: $C_{\text{Fe.х}} = C_{\text{Fe}}^* (V_{\text{К}} / V_{\text{В}})$,

где C_{Fe} – концентрация железа, найденная по градуировочному графику, мг/дм^3 ;

$V_{\text{К}}$ – вместимость мерной колбы, см^3 ;

$V_{\text{В}}$ – объем исследуемого образца вина, взятый на определение, см^3 .

Вывод:

Лабораторная работа № 4

Тема: Современные методы исследований.

Хроматография

Цель: Познакомиться с историей развития метода и видами хроматографии, их значением в химии и биологии.

Объект исследования: хлорофилл (традесканция), гречка, яблоко, мед, шоколад.

Оборудование: вата; фильтровальная и хроматографическая бумага; ватман №1; капилляры; камера для тонкослойной хроматографии; стеклянные пластинки ($20\text{см} \times 20\text{см}$); ножницы; воронки; микропипетки; пинцеты; пробирки; цилиндры (10, 100 мл); сушильный шкаф; карандаш; линейка.

Реактивы: этиловый спирт, 96%; крахмал, соляная кислота (разб. в 2 раза), гексациано-П-феррат калия.

Опыт 1. Тонкослойная хроматография на пластинах. Разделение вытяжки хлорофилла на компоненты

Лист традесканции тщательно растирают в ступке с небольшим количеством этанола. Затем фильтруют в пробирку через небольшой слой ваты. Спиртовую вытяжку хлорофилла капилляром нанести на фильтровальную бумагу и хроматографическую бумагу, ватман № 1, а затем разогнать 2-3 каплями спирта. Растворитель продвигаясь между бумажных волокон, разносит окрашенные вещества от пятна во все стороны. В зависимости от природы вещества и его молекулярной массы, на бумаге оказывается несколько колец.

Опыт 2. Обнаружение ионов Fe^{3+} методом бумажной хроматографии.

Одну чайную ложку растительного сырья размельчают в ступке с 10 мл воды и фильтруют. Фильтрат упаривают до объема 2 мл (готовим заранее). Готовят полоски фильтровальной бумаги 10×3 см для каждого вида растения. Отмечают стартовые линии на расстоянии 1 см от нижнего края полоски. Наносят капилляром на бумагу раствор хлорида железа (III) и рядом, на расстоянии 1,5 см от первого пятна, наносим другим капилляром исследуемый раствор (например: сок яблока, мёд, шоколад на кончике ножа, растворённый в 2 мл воды). Помещают бумагу в прибор, содержащий смесь растворителей: спирт, соляная кислота (разб. в 2 раза) в соотношении 1:4 так, чтобы смесь касалась нижнего края бумаги, но была не выше стартовой линии. Через 30-60 минут бумагу достают из прибора и обнаруживают ионы Fe^{3+} опрыскиваем из пульверизатора раствором гексациано-П-феррат калия. При наличии Fe^{3+} появляется синее окрашивание – образование берлинской лазури.

Опыт 2. Тонкослойная хроматография на пластинах. Разделение вытяжки хлорофилла на компоненты. Хроматографический метод анализа открыт русским ученым М.С. Цветом в 1903 г. С помощью хроматографии Цвет доказал, что хлорофилл является смесью разных белков.

Выводы:

Лабораторная работа № 5

Тема: Современные методы исследований.

Хроматография

Цель: Познакомиться со значением хроматографии в химии и биологии. Гель-фильтрация. Распределительная хроматография.

Объект исследования: смесь аминокислот, голубой декстран, бихромат калия, яичный альбумин.

Оборудование: вата; фильтровальная и хроматографическая бумага; ватман №1; капилляры; камера для тонкослойной хроматографии; стеклянные пластинки (20смх20см); ножницы; воронки; микропипетки; пинцеты; пробирки; цилиндры (10, 100 мл); сушильный шкаф; карандаш; линейка; сефадекс; хроматографические колонки; капельницы; шприцы, длинная стеклянная палочка; колбы конические на 250мл; стаканы химические на 50,100,150мл., пластинки TLC Silica gel.

Реактивы: этиловый спирт; БУВ: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:1); вазелиновое масло; голубой декстран; дихромат калия $K_2Cr_2O_7$, сухой; гидроксид натрия NaOH, 10% раствор; сульфат меди $CuSO_4$, 1% раствор; хлорид натрия NaCl, насыщенный раствор; белок куриного яйца, раствор; биуретовый реактив, нингидрин.

Опыт 1. Гель-фильтрация

Метод гель-фильтрации является очень удобным для изучения макромолекул, т.к. хроматографическое поведение белков в геле определяется формой и молекулярной массой и не зависит от температуры, pH, ионной силы, состава буфера. Для метода гель-фильтрации используются так называемые молекулярные сита – инертные гидратированные полисахаридные материалы, представляющие собой пористые, гранулы – сефадексы. Их получают чаще из бактериальных полисахаридов. Молекулы разных размеров различают по способности проходить через поры внутри гранул геля. Небольшие молекулы, эффективно проникающие внутрь гранул сквозь поры, проходят через колонку, заполненную гелем, медленнее, чем вещества, молекулы которых велики.

При работе с колонкой необходимо соблюдать несколько правил:

1. Колонку устанавливают в штативе строго вертикально.
2. Над гелем всегда должен находиться слой жидкости, чтобы гель не пересыхал.
3. В колонку постоянно должен поступать раствор через капельницу.
4. При разделении смеси для гель-фильтрации необходимо следить, чтобы в колонке был ток жидкости.

В хроматографическую колонку на стеклянный пористый фильтр вносят небольшой по размеру фильтр, затем воду, которую осторожно шприцем прокачивают через стеклянный фильтр, чтобы удалить воздух. Затем в колонку вносим сефадекс (предварительно перерешать) до половины объема колонки. Когда почти вся жидкость, над гелем уйдет, на поверхность геля нанести 2-3 капли фракционирующего раствора, состоящего из смеси двух веществ: насыщенного раствора голубого декстрана (относительная молекулярная масса = 10^7) и насыщенного раствора дихромата калия (относительная молекулярная масса = 294,22). Фракционирующий раствор должен сначала впитаться гелем, затем к колонке подключают капельницу с изотоническим раствором хлорида натрия (предварительно необходимо отрегулировать ток жидкости). По мере прохождения через колонку изотонического раствора хлорида натрия смесь разделяется на фракции, окрашенные в различные цвета. Каждую фракцию собирают в отдельную пробирку. В соответствии с относительной молекулярной массой быстрее всего элюируется голубой декстран, затем желтый дихромат калия.

Опыт 2 Разделение смеси аминокислот методом хроматографии

На первом этапе разделяем смесь аминокислот (валин, изолейцин, лейцин) методом распределительной бумажной хроматографии (КБХ). Для этого приготовили растворы аминокислот с концентрацией 1 мг/мл и смесь органических растворителей, используемых в качестве подвижной фазы в соотношении: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:1), время насыщения – 1,5 часа. На фильтровальной бумаге наметили карандашом вертикальную линию старта в центре круга радиусом 3–4 см. В центр фильтра капилляром нанесли каплю раствора анализируемого вещества в несколько приёмов, периодически высушивая круглый фильтр. Затем вырезали полоску бумаги длиной до центра окружности, шириной 1,5–2 см и погрузили в растворитель. Круглый фильтр поместили вниз в хроматографическую ка-

меру и опустили полоску для подачи растворителя. Потом аккуратно вынули фильтровальную бумагу из камеры, подсушили круглый фильтр и обработали из пульверизатора 0,2%-ым раствором нингидрина в ацетоне в камере для распыления.

На втором этапе разделяем смесь аминокислот методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и рассчитали величины R_f для аминокислот. Использовали пластинки TLC Silica gel 60 (20×20). Сначала приготовили растворы аминокислот с концентрацией 1 мг/мл и подвижную фазу в соотношениях: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:1) (если рассчитывать на 24 мл общего объема: (16:4:4), время насыщения составило 1,5–2 часа. На пластинке для ТСХ провели карандашом линию старта (не нарушая слой сорбента) на расстоянии 1 см от края и нанесли капилляром растворы аминокислот и смесей аминокислот так, чтобы диаметр пятна не превышал 4–5 мм, а центр пятна находился на линии старта. Подсушили пластинку и вновь нанесли анализируемую смесь на линию старта, затем опять подсушили. Пластинку с нанесённой пробой (выше слоя растворителя) поместили вертикально в хроматографическую камеру. Затем пинцетом аккуратно вынули пластинку из камеры (станка), карандашом отметили линию фронта растворителя, подсушили пластинку над плиткой и обработали из пульверизатора 0,2%-ым раствором нингидрина в ацетоне в камере для распыления. Потом её снова подсушили при +70–80 °С в течение 3–5 мин. Отметили характерную окраску пятен раствором нингидрина. По результатам хроматографического анализа рассчитали величины R_f для аминокислот $R_f=l/L$.

Вывод:

Лабораторная работа № 6

Тема: Современные методы исследований.

Хроматография

Цель: Познакомиться с различными видами хроматографии и их значением в химии и биологии.

Объект исследования: глюкоза, фруктоза, мед, сахароза.

Оборудование: фильтровальная и хроматографическая бумага; ватман №1; капилляры; камера для тонкослойной хроматографии; стеклянные пластинки (20смх20см); силуфоловые пластинки; ножницы; воронки; микропипетки; пинцеты; пробирки; цилиндры (10, 100 мл); сушильный шкаф; карандаш; линейка; капельницы; шприцы, длинная стеклянная палочка; колбы конические на 250мл; стаканы химические на 50,100,150мл

Реактивы: этиловый спирт, 96%; глюкоза, 0,05М раствор; фруктоза, 0,05М раствор; сахароза 0,05М раствор; мед, водный раствор; бутанол; CH_3COOH уксусная кислота, ледяная; анилиндифениламинный реактив (0,25мл анилина, 0,25г дифениламина, 25мл ацетона); H_3PO_4 фосфорная кислота, 85% раствор; целлюлоза в порошке анилинфталатный реактив (0,83г фталевой кислоты и 0,46г анилин в 50мл бутанола, насыщенного водой), БУВ; вазелиновое масло.

Опыт 1. Разделение углеводов методом тонкослойной хроматографии.

Силуфоловую пластину поделить на равные части и разрезать. От края пластинки отступить 1,2см (линия старта). На линию старта нанести карандашом 4 еле заметных пятна. Метки можно пронумеровать, чтобы запомнить порядок нанесения углеводов. Пластинку положить для активации на 10-15 минут в сушильный шкаф при $T=110^\circ\text{C}$. Хроматографическую камеру заполнить проявителем системы БУВ (4:1:1), так, чтобы высота слоя достигала 0,5-0,7см. Крышку камеры хорошо притереть вазелиновым маслом. На активированную силуфоловую пластинку нанести капиллярами три известных углевода (фруктозу, глюкозу, сахарозу), в 4-ую точку - мед. Диаметр каждого пятна должен быть 1-2мм. Хроматограмму нужно хорошо высушить, затем быстро, но аккуратно поставить в хроматографическую камеру. Через 1,5 часа хроматограмму необходимо вынуть и высушить под тягой в наклонном положении (линией старта наверху). Высушенную хроматограмму протереть через анилидифениловый реактив (10мл реактива смешать с 1мл фосфорной кислоты), затем подсушить под тягой и положить на 7-10 мин в сушильный шкаф при $T=130^\circ\text{C}$.

Зоны углеводов проявляются в виде: разноцветных пятен на белом фоне (глюкоза – серо-голубой; сахароза – коричневый; рибоза – голубой; фруктоза – карминовый).

Для разделения углеводов можно приготовить пластинки 20х10см с тонким слоем целлюлозы. 1г целлюлозы смешивают с 9мл воды и растирают до однородной массы. Затем с помощью пипетки на 10мл наливают суспензию на один край пластинки и, наклоня пластинку, равномерно распределяют всю суспензию на ее поверхности. Пластинку с сорбентом помещают на горизонтальную поверхность и сушат сначала на воздухе, а затем непосредственно перед работой в сушильном шкафу при 110 °С в течение 10 минут. На расстоянии 1см от края пластины карандашом или иглой намечают 4 едва заметные точки старта и наносят в них с помощью капилляров растворы сахаров. Затем пластинку помещают в хроматографическую камеру, погружая ее стартовым краем в проявитель на 0,5 см. Через 60-90 минут хроматограмму вынимают и опрыскивают анилинфталатным реактивом, после чего выдерживают на воздухе, а затем прогревают в сушильном шкафу при 130 °С в течение 10 минут. Позиции углеводов на хроматограмме выявляются в виде коричневых пятен на светлом фоне.

Выводы:

Лабораторная работа № 7

Тема: Современные методы исследований.

Хроматография

Цель: Познакомиться с различными видами хроматографии и их значением в химии и биологии.

Объект исследования: этанол-эфирный экстракт фосфолипидов из мозга (или других тканей).

Оборудование: фильтровальная и хроматографическая бумага; ватман №1; капилляры; камера для тонкослойной хроматографии; стеклянные пластинки (20смх20см); силикофолые пластинки; ножницы; воронки; микропипетки; пинцеты; пробирки; цилиндры (10, 100 мл); сушильный шкаф; карандаш; линейка; капельницы; шприцы, длинная стеклянная палочка; колбы конические на 250мл; стаканы химические на 50,100,150мл

Реактивы: этиловый спирт, 96%; БУВ; вазелиновое масло; хроматографическая бумага; силикагель; смесь изопропанол – уксусная кислота – вода (3 : 1 : 1); 4); 0,5 М раствор HCl; треххлорное олово; концентрированная H₂SO₄.

Опыт 1.Разделение фосфолипидов на отдельные фракции методом хроматографии на бумаге

Выделенные фосфолипиды (хлороформ-метаноловый экстракт) с помощью пипетки объемом 0,1 мл или специально отградуированного капилляра наносят на пластинку, отступив 1,5 см от края. Расстояние между точками – не меньше 1 см. Величина R_f зависит от количества нанесенного на пластинку вещества. Лучший результат достигается при нанесении 0,5-1,0 мг вещества. Нанесенные на бумагу экстракты высушивают в потоке холодного воздуха (феном), затем хроматограммы помещают в стеклянные цилиндры с подшлифованной крышечкой на 36-40 ч. В качестве растворителя используют смесь изопропанол – уксусная кислота – вода (3 : 1 : 1).

Обнаружение пятен. При работе с окрашенными веществами видны цветные пятна разделившихся веществ. Если к адсорбенту предварительно добавить флуоресцирующее вещество, то пластинки хорошо просматриваются в ультрафиолетовых лучах. Пластинку также можно обрызгать из пульверизатора раствором флуоресцирующего вещества. Для обнаружения пятен, полученных на тонком слое адсорбента, применяют большинство реагентов, используемых в бумажной хроматографии. Преимуществом тонкослойной хроматографии является возможность работы на чисто неорганических слоях, где почти все вещества могут быть обнаружены опрыскиванием следующими проявителями: концентрированной серной кислотой с добавкой или без добавки альдегидов (ванилина, анисового альдегида и др.) или смесью концентрированных серной и азотной кислот. После проявления этими

реагентами пластинку иногда необходимо нагреть до 80-100 °С или даже до 400 °С. Хорошие результаты можно получить при проявлении раствором треххлорного олова с последующим нагреванием до 80–100 °С. Для обнаружения фосфолипидов, содержащих свободную аминогруппу, применяют раствор нингидрина. Фосфолипиды, способные присоединять йод, проявляются парами йода.

Выводы:

Лабораторная работа № 8

Тема: Современные методы исследований.

Электрофорез

Цель: Познакомиться с методом экстракции растворимых белков, разделением их в электрическом поле и обнаружением белковых фракций и активности ферментов.

Объекты исследования: семена сои, сыворотка крови.

Оборудование. Прибор для электрофореза, прибор для обесцвечивания красителя, шприцы, пробирки, колбы на 100, 1000мл, дозаторы на 0,1мл и 0,05мл, центрифуга, центрифужные весы и пробирки, ступки с пестиками, воронки, палочки, мельничные газы, пипетки на 5мл, кристаллизаторы со льдом.

Реактивы. Рабочие растворы №1, №2, №3 для приготовления 7,5% геля, бромфеноловый синий, 0,001% раствор, трис-глициновый буфер (pH=8,3), амидовый черный 10Б, 1% в 7% растворе уксусной кислоты CH_3COOH , уксусная кислота CH_3COOH , 7% раствор, ТХУ, 7% раствор, хлорид натрия, 0,15М раствор. пероксид водорода, 0,1%-ный раствор; бензидин в ацетатном буфере (pH=4,7).

Ход работы:

Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) представляет собой один из наиболее удобных методов для анализа смеси белков. Высокая разрешающая способность этого метода определяется тем, что разделение веществ по их электрофоретической подвижности удачно сочетается с эффектом молекулярного сита. Таким образом, скорость движения белковых молекул через гель определяется не только зарядом молекулы, но также ее размером и формой.

Применяемый для электрофореза полиакриламид получают полимеризацией двух мономеров: акриламида и метилен-бис-акриламида в присутствии катализатора, представляющего собой смесь раствора персульфата аммония с тетраметилэтилендиамином (ТЕМЭД). Мономеры и катализаторы сначала смешивают в буфере, а затем заливают в стеклянные трубочки для полимеризации. При этом линейные цепи полиакриламида сшиваются метиленовыми мостиками. Гель обладает ярко выраженными гидрофильными свойствами благодаря наличию в структуре правильно чередующихся амидных групп.

Ход электрофореза. Прибор для электрофореза состоит из двух камер, которые устанавливают одну под другой. В верхней камере укрепляют трубочку с гелем, нижние концы которой опущены в нижнюю камеру. В верхнюю и нижнюю камеры прибора наливают электродный трисглициновый буфер pH 8,3, так, чтобы концы трубочек погружались в буфер в верхней и нижней камер, в центре камеры укреплены электроды: верхний – катод (-), нижний – анод (+).

1. Прибор соединяют с выпрямителем, тщательно соблюдая правильность подключения электродов к соответствующим полюсам выпрямителя (БПЭ) (блок питания электронный).
2. Ручку БПЭ «Электрофорез» устанавливают в крайнее левое положение, тумблер «Сеть» выключают.
3. Подключают БПЭ в сеть с напряжением 220 В.
4. Ручку «Электрофорез» – обесцвечивание устанавливают в положение «Электрофорез». Ручку БПЭ «Режим работы» устанавливают в положение 25-50мА. Ручку БПЭ «Измерение» устанавливают в положение $\times 1\text{мА}$.

5. Включают тумблер «Сеть», при этом должна загореться сигнальная лампочка на панели БПЭ.
6. Поворачивают ручку «Электрофорез» по часовой стрелке до тех пор, пока измерительный прибор не будет показывать ток из расчета 2мА на трубочку (20 мА на десять трубочек); спустя 15 мин увеличивают силу тока на 4 мА на трубочку (40мА на десять трубочек) и поддерживают заданный режим работы до окончания процесса электрофореза. Электрофорез продолжают 1-1,5ч. За это время краситель в виде узкой фиолетовой полоски располагается на 0,5 см выше верхнего конца трубочки.
7. Закончив работу, прибор выключают. Для этого выключают тумблер «Сеть» на БПЭ, отключают БПЭ от сети и камеру от БПЭ.

Буфер из верхней камеры сливают в одну колбу, буфер из нижней камеры в другую. Буферы могут быть использованы до 10 раз (хранят в холодильнике).

Трубочки вынимают из камеры, помещают в пронумерованные пробирки. Гель из них извлекают с помощью воды, вводимой шприцем с длинной иглой между столбиком геля и стенкой трубочки, при этом гель выскальзывает из трубочки. На поверхность геля в каждую трубочку дозатором на 0,05мл наносят белок. Затем шприцем каплю индикатора бромфеноловый синий и шприцем, осторожно буфер (трис-глициновый рН 8,3). Трубочки закрепляют в верхней камере прибора для электрофореза, избегая встряхивания. Втулки с нижних концов снимают. Проводят разделение белков на приборе для электрофореза.

Столбик геля помещают в пробирку с ТХУ на 10 мин для фиксации белка в геле, а затем в пробирку с красителем на 10 мин для окрашивания и фиксации белковых полос, при этом окрашивается и гель. Затем краситель сливают в склянку (для многократного использования), а гель заливают 7% раствором уксусной кислоты для отмывки от избытка красителя. Пробирки оставляют на сутки, при этом несколько раз заменяют раствор уксусной кислоты. В результате гель обесцвечивается, а белковые полосы остаются окрашенными.

Избыток красителя можно удалить с помощью прибора для обесцвечивания (прибор для электрофореза имеет приставку). В этом случае процесс обесцвечивания занимает 10-20 мин.

Вывод:

Раздел 2. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ

Лабораторная работа № 9

Тема: Методы обнаружения белков

Биуретовый метод

Цель: Познакомиться с методами изучения содержания белков.

Объекты исследования: соя.

Оборудование: штатив с пробирками, микропипеты – дозаторы, наконечники, пипетки на 1 или 2 мл, кюветы толщиной 3 мм или 5 мм, ФЭК.

Объект исследования: сыворотка крови, слюна, соя.

Реактивы: биуретовый реактив, готовый к использованию, бычий сывороточный альбумин, калибратор – калибровочный раствор альбумина, 70 г/л, готовый к использованию, 0,9 % раствора хлорида натрия.

Опыт 1. Получение экстрактов продуктов питания

Ход работы: в пробирку налить 0,1 мл исследуемой слюны, экстракта сои, в другую (контрольную) пробирку – 0,1 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. В обе пробирки добавить по 5,0 мл биуретового реактива. Содержимое обеих пробирок перемешать. Через 30 мин измерить экстинкцию исследуемого раствора

Опыт 2. Определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом (с помощью стандартного раствора).

	Опытная проба	Стандартная проба
Калибратор	-	0,02 мл

Сыворотка крови	0,02 мл	-
Реагент	1 мл	1 мл

В пробирку налить 0,1 мл исследуемой сыворотки (слюны, сои), в другую (контрольную) пробирку – 0,1 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. В обе пробирки добавить по 5,0 мл биуретового реактива. Пробы перемешать, выдержать 15 мин при комнатной температуре. Измерить оптическую плотность опытной (Еоп) и стандартной (Ест) пробы против реактента.

Расчет: концентрацию белка (С) в пробе в г/л рассчитать по формуле:

$$C = E_{оп} / E_{ст} \times 70,$$

где 70 – концентрация белка в калибраторе, г/л.

Нормальные величины: в сыворотке крови – 65-85 г/л.

Вывод:

Лабораторная работа № 10

Тема: Методы обнаружения белков

Хроматография. Электрофорез.

Цель: Познакомиться с обнаружением белков методом хроматографии и электрофореза.

Объекты исследования: кровь, соя.

Опыт 1. Определение молекулярной массы гемоглобина методом гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-100

Фракционирование на гелях основано на различиях в размерах молекул, этим методом можно с достаточной степенью точности определить молекулярную массу белка. Для сефадекса G-100 экспериментальным путем получено уравнение для расчета молекулярной массы:

$$G-100 \lg M_r = 5,941 - 0,847 \frac{V_{э}}{V_q},$$

где, М – молекулярная масса;

$V_{э}$ – объем раствора, в котором выходят из колонки исследуемое вещество;

V_q – объем водной фазы колонки.

Для определения в колонку ввести небольшое количество вещества с высокой молекулярной массой. Затем через колонку пропустить растворитель. Объем растворителя, которым затем элюируется это вещество равен объему водной фазы колонки. В качестве вещества с высокой молекулярной массой обычно используют голубой декстран, молекулярная масса которого равна 2×10^6 .

Для определения использовать колонку объемом 13,5 куб.см, наполненную гелем сефадекса G-100 и промытую 0,1 н р-ром хлорида натрия.

1.Определение значения V_0

Открыть зажим на колонке и слить 0,1 н р-р хлорида натрия, находящийся над гелем. Зажим закрыть и на поверхность геля аккуратно, по стенке с помощью пипетки нанести 0,5 мл р-ра голубого декстрана. Открыть зажим, собрать вытекающую из колонки жидкость в мерный цилиндр и сохранить до конца опыта. Наблюдать за проникновением нанесенного р-ра в гель (поверхность геля не должна оставаться сухой, поэтому по мере вытекания жидкости из колонки необходимо доливать хлорид натрия либо подсоединить к колонке склянку с р-ром).

Заранее приготовить 5 чистых пробирок. Как только из колонки начнет вытекать окрашенный (голубой) раствор, в эти пробирки собрать окрашенные фракции, по 20 капель в каждую пробирку. Элюат из этих пробирок от начала ряда, включая пробирку с самой интенсивной окраской, слить в цилиндр, где уже собраны предыдущие (неокрашенные) фракции. Объем остальных пробирок, в которых окраска начинает ослабевать, не учитывается.

Таким образом, объем элюата от начала опыта до появления наиболее яркой голубой

окраски составляет объем водной фазы колонки (V_0).

Закончив определение, отмыть колонку от следов голубого декстрана.

2.Определение V_3

Ход работы повторить полностью, но вместо р-ра декстрана в колонку внести 0,1 мл раствора гемоглобина (1%). Объем элюата от начала опыта с гемоглобином и до появления в пробирке максимальной розовой окраски определить как

Расчет:Полученные значения V_0 и V_3 подставить в приведенное выше уравнение и найти молекулярную массу, используя таблицу антилогарифмов.

По литературным данным молекулярная масса гемоглобина равна 64500.

Теоретическое задание №1

Определение молекулярной массы множественных молекулярных форм сорбитолдегидрогеназы (СДГ-1, СДГ-2) методом электрофореза в градиенте концентрации полиакриламидного геля

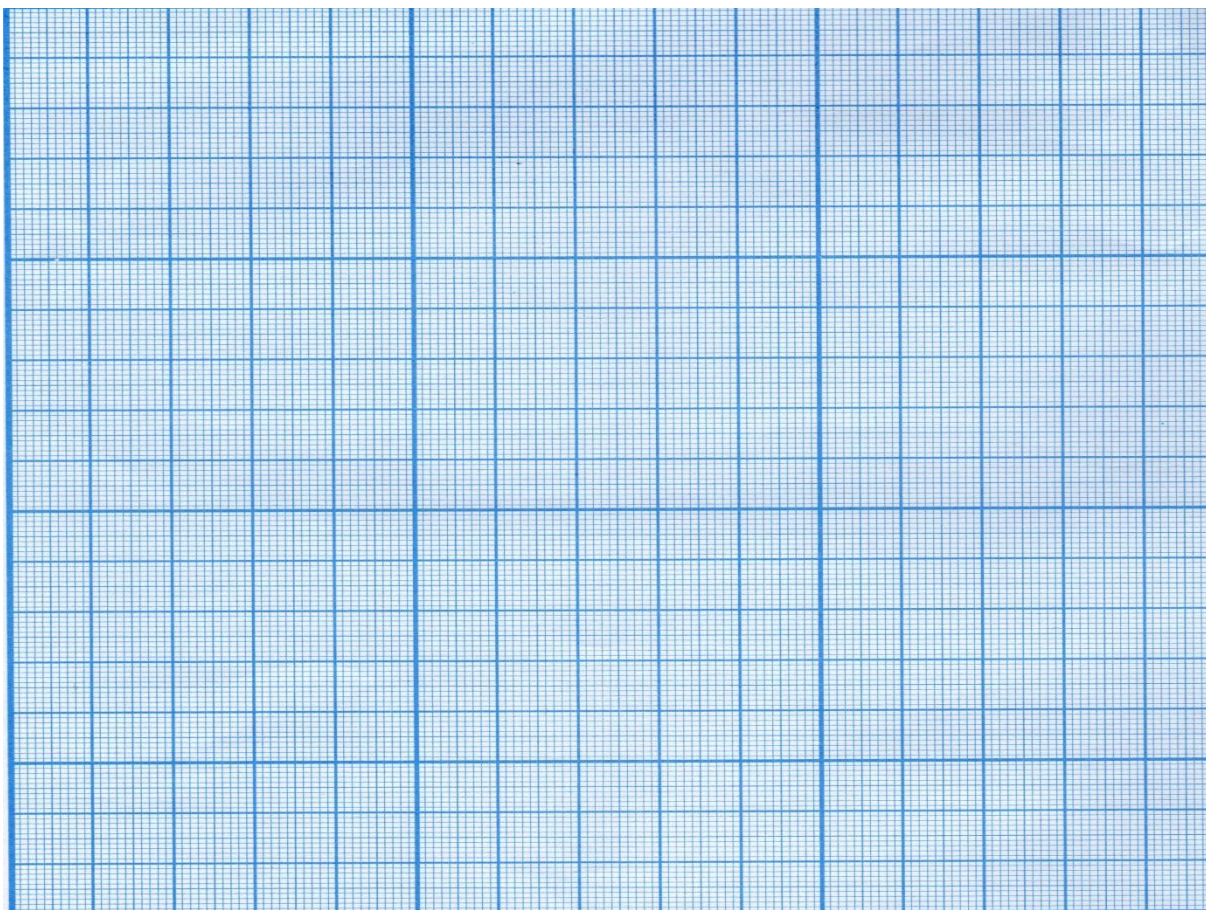
Формы	M_r	LgM_r	a	Rf
Тироглобулин	669000		6,0	
Ферритин	440000		8,5	
Каталаза	232000		15,0	
Лактат ДГ	140000		32,0	
Альбумин	67000		55,0	
СДГ-1	X_1		27,0	
СДГ-2	X_2		23,0	
Длина колонки (L)			120 мм	

Теоретическое задание №2

Определение молекулярной массы субъединиц сорбитолдегидрогеназы (СДГ-1, СДГ-2) методом электрофореза в ПААГ (в присутствии додецилсульфата натрия)

Формы	M_r	LgM_r	a_1	a_2	Rf
Фосфоорилаза «В»	94000		11	12	
Альбумин	67000		20	20	
Овальбумин	43000		25	27	
Карбоксиангидраза	30000		32	34	
Трипсин	20100		37	40	
Лактоальбумин	14000		45	49	
			$L=55$	$L=62$	
СДГ-1	X_1		32	$38 L=59$	
СДГ-2	X_2		34	$35 L=57$	
Длина колонки			$L=50$		

Задание 3: Нарисовать графики и полученные электрофореграммы. $Rf = a / L$



Вывод:

Лабораторная работа № 11

Тема: Ферменты

Определение активности ферментов

Оборудование: Спектрофотометр, центрифуга, дозаторы, термостат, холодильник.

Реактивы: 1%-ная дрожжевой РНК, 0,2 М ацетатный буфер (pH=5,6), спиртово-магниевый осадитель (0,19 г. $MgCl_2$, 90 мл этанола, 10 мл воды).

Объект исследования: соя.

Опыт 1. Определение удельной активности рибонуклеазы.

Субстратом для определения РНКазной активности служила высокополимерная РНК из дрожжей. Инкубационная смесь содержала 0,1 мл соевого экстракта, содержащего РНКазу, 0,4 мл 1%-ной дрожжевой РНК в 0,2 М ацетатном буфере (pH=5,6). Инкубацию проводили при 37°C в течение 45 минут. После чего негидролизованную РНК осаждали, добавляя к пробам по 1 мл) спиртово-магниевый осадителя (0,19 г. $MgCl_2$, 90 мл этанола, 10 мл воды). Затем пробирки ставили на 1 час на лед для лучшего формирования осадка, который удаляли центрифугированием при 2000 об/мин. В течение 10 мин. Из супернатанта отбирали пробы по 0,5 мл, к каждой прибавляли по 3 мл воды и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 260 нм против воды. Параллельно обрабатывали контрольную пробу, в которую спиртово-магниевый осадитель вносили до ферментного раствора.

За единицу активности принимали такое количество фермента, которое вызывает увеличение поглощения раствора на единицу оптической плотности при 260 нм в мин.

$$A_{уд} = (\Delta E_{260} * V_1 * V_2) / (V_3 * t * W)$$

ΔE_{260} – прирост экстинкции опытной пробы по отношению к контрольной.

t – Время инкубации (в мин.)

V_1 – объем после разбавления.

V_2 – объем пробы после осаждения РНК спиртово-магниевым раствором.

V_3 – объем пробы, взятой для разбавления.

W – масса белка (фермента в пробе) в мг.

Выводы:

Раздел 3 СТРУКТУРА ГЕНОМА ПРО- И ЭУКАРИОТ

Лабораторная работа № 12

Тема: Выделение и свойства ДНК

Цель: познакомиться с методами выделения и обнаружения ДНК из дрожжей и ее строением

Оборудование и реактивы: электроплитка, ступки с пестиками, воронка, фильтровальная бумага, стакан (50 мл, 700 мл), палочка стеклянная, цилиндр на 10 и 25 мл, кристаллизаторы со льдом, центрифуга, пробирки центрифужные, дрожжи сухие, NaCl (растворы 1М и 2М), гидроксида натрия (растворы 0,4% и 10%), сульфат меди (1%), дифениламинный реактив (1%), песок.

Объект исследования: дрожжи

Ход работы:

Опыт 1. Выделение и свойства ДНК. В ступку помещают 1 г дрожжей с равным количеством песка, ставят на лед и растирают с 2 М р-р хлорида натрия, затем в течение 15 минут, постепенно добавляя через каждые 5 минут по 5мл 1М-ного раствора (охлажденного) хлорида натрия. Образовавшуюся гомогенную массу переносят в центрифужные пробирки, уравнивают их и центрифугируют в течение 15 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают в мерный цилиндр. В цилиндр вносят шестикратный объем воды и медленно тонкой струйкой (по стеклянной палочке) надосадочную жидкость при постоянном помешивании. ДНК выделяется в виде нитей, наматывающихся на стеклянную палочку. ДНК хорошо преломляет солнечный свет и видна на свету.

Переносят в пробирку нити выделенного дезоксирибонуклеопротеида и, помешивая растворяют их в 1 мл 0,4 % р-ра гидроксида натрия. К раствору (15-20 капель) добавляют равный объем дифениламинового реактива. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 15 минут. Освободившаяся при гидролизе дезоксирибоза реагирует с дифениламином и дает синее окрашивание.

Выводы:

Лабораторная работа № 13

Тема: Выделение и свойства РНК.

Оборудование и реактивы: электроплитка, пробирки с воздушным холодильником, стаканы (500, 800 мл), ступки с пестиками, песок, лед воронки, вата; дрожжи, NaOH (р-р 10%), CuSO₄ (р-р 1%), амм. раствор AgNO₃ (р-р 2%), NaCl (1М и 2М), H₂SO₄ (конц. и р-р 5%)., α-нафтол (р-р 1% спиртовой), молибденовый реактив, диэтиловый эфир, NaOH (р-р 0,04%), лакмус, CH₃COOH (р-р 5%), тимол (спиртовой 1% р-р), индикатор универсальный. спектрофотометр, центрифуга, дозаторы, термостат, 1%-ная дрожжевой РНК, 0,2 М ацетатный буфер (рН=5,6), спиртово-магниевый осадитель (0,19 г. MgCl₂, 90 мл этанола, 10 мл воды).

Опыт 1. Выделение и свойства РНК.

Ход работы:

1 г дрожжей в ступке смешивают со смесью, (0,5 мл эфира и 0,5 мл воды), добавляют равное количество песка и тщательно растирают в течение 10-15 минут, приливая 5-10 мл 0,4%-ного раствора едкого натра. После чего смесь фильтруют через сладчатый фильтр или кусочек ваты. К фильтрату добавляют небольшими порциями 5% раствор уксусной кислоты до слабо кислой реакции (до полного осаждения нуклеопротеида). Осадок отделяют на центрифуге в течение 10 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования осадок переносят в большую пробирку, добавляя 1 мл 10% р-ра серной кислоты. Пробирку закрывают пробкой с воздушным холодильником, ставят на кипящую водяную баню на 1-1,5

часа, закрыв пробирку ватой. После охлаждения гидролизат фильтруют и с фильтратом проводят качественные реакции на составные части нуклеопротеидов.

1. Биуретовая реакция на полипептиды

В пробирку вносят 10 капель дрожжевого гидролизата и равный объем 10%-ного раствора гидроксида натрия, затем 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди. Перемешивают и по появлению сине-фиолетовой окраски судят о наличии белка.

2. Серебряная проба на пуриновые основания

К 10 каплям дрожжевого гидролизата по каплям добавляют равное количество 2%-ного аммиачного раствора азотнокислого серебра. Через 2-3 минуты выпадает осадок серебряных солей пуриновых оснований бурого цвета (содержимое пробирки не перемешивать).

Реакция протекает по следующему уравнению:



3. Качественная реакция на пентозу (реакция Молиша)

К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 3 капли 1% спиртового р-ра тимола, перемешивают и по стенке пробирки осторожно приливают 20-30 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется продукт конденсации фурфурола с тимолом - красного цвета. При взаимодействии концентрированной серной кислоты с пентозами или гексозами происходит их дегидратация: из пентоз образуется фурфурол, а из гексоз – оксиметилфурфурол, которые дают с тимолом продукт конденсации красного цвета.

5. Качественная реакция на углеводы

К 5 каплям дрожжевого гидролизата добавляют 3 капли 0,2% спиртового р-ра α -нафтола, а затем (осторожно, не перемешивая) 8-10 капель конц. серной кислоты. В результате на границе раздела фаз образуются зеленое и малиновое кольца.

6. Качественная реакция на дезоксирибозу и рибозу

К 5 каплям гидролизата дрожжей добавляют дифениламинный реактив, пробирки выдерживают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. С дезоксирибозой реактив дает синее окрашивание, а с р-ром рибозы – зеленое. Образуется сине-зеленое окрашивание гидролизата.

7. Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 10 каплям дрожжевого гидролизата добавляют равный объем раствора молибденового реактива. Пробирку нагревают (осторожно), жидкость окрашивается в желтый цвет, затем при охлаждении образуется мелко-кристаллический осадок лимонно-желтого цвета.

Выводы:

Лабораторная работа № 14

Тема: Секвенирование

Цель: Познакомиться с методом секвенирования ДНК (*in silico*).

Оборудование: компьютер. База данных

Опыт 1. : Поиск и сравнение последовательностей макромолекул в базах данных.

Работа с первичной структурой биологических макромолекул – то есть с нуклеотидной или аминокислотной последовательностью – является, пожалуй, наиболее распространенной задачей. Этому способствует легкость получения информации о первичной структуре нуклеиновых кислот и белков на современном этапе развития биохимии и молекулярной биологии. На сравнении последовательностей нуклеиновых кислот основаны современные методы классификации живых организмов, а анализ множества гомологичных белковых последовательностей позволяет получить информацию о структурных и функциональных особенностях молекулы.

Последовательности белков и нуклеиновых кислот очень легко могут быть записаны в виде текста, поскольку и те, и другие являются линейными, то есть не ветвятся. Первичная

структура описывается как последовательность мономеров: у белков - в направлении от N-конца к С-концу; у нуклеиновых кислот – от 5'-конца к 3'-концу. Последовательности записываются буквами английского алфавита в однобуквенной нотации.

Для записи биологических последовательностей используется формат Fasta – текст, размеченный особым образом. Каждая последовательность может быть предварена заголовком, содержащим знак ">" и название последовательности. Заголовок занимает отдельную строку; после переноса строки записывается последовательность. Текстовый файл (или поле ввода), содержащий несколько последовательностей (естественно, с разными заголовками), обозначается термином "multi-fasta". Если в файле или поле ввода содержится только одна последовательность, она может не иметь заголовка.

Замечательное свойство молекулярных последовательностей, способствующее их использованию в качестве источника данных для классификации организмов, заключается в возможности количественной оценки их сходства. Для количественной оценки сходства последовательностей используют выравнивание – расположение последовательностей одна под другой с сохранением порядка символов таким образом, чтобы достичь совпадения или сходства мономеров в наибольшем числе позиций. Выравнивание производится путем

смещения частей последовательностей относительно друг друга и добавления разрывов в последовательности.

При количественном сравнении последовательностей биомолекул необходимо учитывать физико-химические свойства мономеров. Выравнивание справа содержит больше совпадений аминокислот, однако более сходными по физико-химическим свойствам являются олигопептиды в выравнивании слева.

Для дифференцированной оценки совпадений или несовпадений различных мономеров используются матрицы замен, основанные на статистике аминокислотных или нуклеотидных замен в гомологичных молекулах с известной структурой. Числа на пересечениях символов показывают, насколько часто в молекулах происходит замена одного мономера на другой, а значит, насколько сильно соответствие друг другу этих мономеров в выравнивании свидетельствует о сходстве выравниваемых молекул.

Количественный показатель сходства биологических последовательностей – score, или счет выравнивания – вычисляется путем сложения чисел из матрицы замен для каждой позиции. Score – это мера сходства, т.е. чем он выше, тем более сходны последовательности. Если выравнивание содержит разрывы, они также должны быть учтены. Очевидно, что разрывы – это признак различия в молекулах, поэтому наличие разрывов должно понижать счет выравнивания. Величина, отнимаемая от счета выравнивания для учета разрывов, называется штрафом за делецию (штрафом за разрыв) – gap penalty. Длинные разрывы в последовательностях, занимающие несколько позиций, оцениваются целиком – поскольку разрывы интерпретируются как мутации в одной из гомологичных молекул, длинный разрыв рассматривается как одна мутация, затронувшая сразу несколько мономеров. Для этого используются отдельные значения штрафов за «открытия» и за «продолжения» разрывов.

Значения штрафов, как правило, выбираются исходя из характеристик выравниваемых последовательностей, особенностей конкретного алгоритма и сложившейся практики. Расчет штрафов за делеции, если штраф за открытие разрыва равен 10, за продолжение – 1. Для получения парного выравнивания, т.е. оценки сходства двух последовательностей, используются различные модификации алгоритма динамического программирования (алгоритм Нидлмана – Вунша, алгоритм Смита – Ватермана и другие), дающие – для заданных последовательностей, матрицы замен и штрафов за разрывы – выравнивание с наибольшим счетом из всех возможных. С увеличением числа выравниваемых

последовательностей вычислительная сложность (и требуемое время) алгоритма динамического программирования возрастает до неприемлемых величин, поэтому для множественного выравнивания – т.е. одновременного выравнивания трех или более последовательностей – используются иные, т.н. эвристические алгоритмы (Clustal, Muscle и др.). Наконец, совершенно особую группу алгоритмов для работы с последовательностями составляют алгоритмы поиска по банкам данных, среди которых наиболее известен алгоритм BLAST.

Ход работы:

1.1. Одним из центральных ресурсов поиска информации в биологии является портал Национального центра биотехнологической информации США:

ncbi.nlm.nih.gov

Перейдите в веб-браузере по указанному адресу.

Данный ресурс является гигантским сборником разнообразнейших инструментов анализа биологической информации, порой способных заменить десятки специализированных программ – вы убедитесь в этом в ходе дальнейшей работы. Тем не менее, на главной странице вы видите единственную строку поиска – поскольку первым шагом к работе с биологическими данными является поиск информации в специальных базах и банках данных. Рассматриваемый в этой работе тип поиска представляет собой т.н. поиск по ключевым словам: система будет искать записи баз данных, содержащие введенные нами слова.

Выпадающий список позволяет выбрать базу данных нужного типа (например, Protein – для

поиска последовательностей белков, Nucleotide – нуклеиновых кислот, Structure – пространственных структур биомолекул, Pubmed – поиск научных публикаций).

поиск по ключевым словам:

1.3. Перейдите по ссылке к первой записи из списка результатов. Запись состоит из полей, обозначенных заглавными буквами, которые содержат информацию о

Расширенный режим поиска

1.4. Вернитесь на предыдущую страницу – к результатам поиска. В данном случае системой были найдены записи, в которых слово Hemoglobin встречается в любом из полей. При таком подходе часто бывает сложно найти нужную последовательность среди множества нерелевантных результатов. Более гибкие возможности поиска предоставляет расширенный режим, в который можно перейти с помощью ссылки Advanced под полем ввода (откройте ее в новой вкладке).

В расширенном режиме можно указывать, в каких полях должны встречаться искомые слова.

Пусть нам нужно найти записи, содержащие слово Hemoglobin исключительно в заголовке.

В первом выпадающем списке выберите Title, в поле ввода рядом с ним впишите Hemoglobin. Нажмите Search или Enter, чтобы увидеть результаты поиска. Сравните количество найденных записей в этом случае и в предыдущем.

Выводы:

Раздел 4. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Лабораторная работа № 15

Тема: Выделение ДНК и ее обнаружение методом ПЦР-анализа

Цель: Познакомиться с методом ПЦР анализа

Оборудование и реактивы: Термостат для пробирок типа Эппендорф ТЕРМО 24-15, Микрцентрифуга-вортекс ТЭТА-2, набор автоматических пипеток (дозаторов), буфер ЛБ, буфер ОБ-1, буфер ОБ-2, буфер ТЕ, сорбент.

Опыт 1: Выделение ДНК сои

Пробоподготовка

1. В пробирку вносили немного исследуемой пробы. Добавляли лизирующий буфер, а затем пробу гомогенизировать до однородного состояния.
 2. Пробирку с полученным гомогенатом помещали в термостат на 40 мин при температуре 65°C.
 3. Встряхивали содержимое на вортексе и затем центрифугировали при 10 тыс. оборотов в минуту. Надосадочную жидкость перенесли в чистую пробирку.
 4. Добавляли в пробу сорбента и тщательно перемешивали, используя центрифугу на 10 тыс об/мин.
 5. Надосадочную жидкость удаляли, а к осадку добавляли буфер ОБ-1 и центрифугировали при 2 тыс об/мин несколько секунд.
 6. Надосадочную жидкость удаляли и вновь промывали выделенную ДНК.
 7. Добавляли буфер ОБ-2 и вновь центрифугировали при 2 тыс об/мин, затем надосадочную жидкость удаляли.
 8. Осадок сушили в термостате.
 9. Добавляли к осадку буфер ТЕ, встряхивали на вортексе, помещали в термостат на 10 минут и центрифугировали при 10 тыс об/мин.
 10. Надосадочную жидкость переносили в чистую пробирку.
- ДНК, полученную в ходе пробоподготовки можно хранить в холодильнике и использовать для дальнейшего анализа

Выводы:

Лабораторная работа № 16

Тема: ПЦР-анализ. Обнаружение трансгенов

Цель: Познакомиться с методом обнаружения трансгенов

Оборудование и реактивы: Термостат для пробирок типа Эппендорф ТЕРМО 24-15, Микроцентрифуга-вортекс ТЭТА-2, амплификатор АМПЛИ-4, УФ-бокс, Прибор для горизонтального электрофореза НИП-300, видеосистема «VITran» с компьютером для сканирования гелей, набор автоматических пипеток (дозаторов), буфер ЛБ, буфер ОБ-1, буфер ОБ-2, буфер ТЕ, сорбент, пробирки «ЛЕС-ПЦР ядро», ПЦР-растворитель, смесь праймеров, положительный контроль, буфер для электрофореза, агароза, бромистый этидий, краска-лидер.

ДНК определяли с помощью наборов реагентов «ЛЕС-ПЦР ядро» производства ООО «Компания Биоком» (Москва). Реагенты предназначены для специфической амплификации и детекции гена наиболее распространенного белка сои лектина.

ДНК, полученную в ходе пробоподготовки использовали для дальнейшего анализа

ПЦР-анализ

1. Добавляли в пробирки «ПЦР – ядро» растворителя и смесь праймеров, встряхивали и вносили исследуемые образцы. В одну пробирку вносили отрицательный контроль (ТЕ – буфер), в другую – положительный контроль. Затем центрифугировали при 2 тыс об/мин.
2. Пробирки с ПЦР смесью помещали в прибор для ПЦР - анализа и запускали программу, состоящую из 35 циклов ПЦР.

Детекция амплифицированных фрагментов ДНК

Для выявления амплифицированных фрагментов ДНК использовали электрофорез на пластинах агарозного геля с добавлением бромистого этидия. Напряжение 100-150В, время 30 мин. Используя программу «Биоком» через трансиллюминатор полученный результат переводим на экран компьютера.

Детекция амплифицированных фрагментов ДНК

Для выявления амплифицированных фрагментов ДНК использовали электрофорез на пластинах агарозного геля с добавлением бромистого этидия. Напряжение 100-150В, время 30 мин. Полученные электрофореграммы выявляли через трансиллюминатор. С использованием программы Vitran осуществляли детекцию на компьютер.

Лабораторная работа № 17

Тема: Электрофорез плазмидной ДНК

Цель: познакомиться с методами обнаружения плазмидной ДНК

Оборудование и реактивы: агароза и буфер ТАЕ; рестриктазы Eco RI, Hinf I, Hae III,

Объекты исследования: плазмидная ДНК pBR322.

Ход работы:

Опыт 1: Обнаружение плазмидной ДНК методом электрофореза

Практически во все времена нашей жизни мы окружены бактериями и живем в симбиозе с некоторыми из них. Чтобы быстро адаптироваться к окружающей среде, у бактерий есть плазмиды. Это кольцеобразные молекулы ДНК, которые естественным образом встречаются в бактериях и редко в эукариотах (на хлебопекарных дрожжах). Плазмиды имеют размер от 1000 до 1 000 000 пар оснований, содержат последовательности ДНК, что позволяет использовать транскрипционные комплексы клеток-хозяев и реплицировать их самостоятельно. Клетка может содержать несколько разных плазмид, а также несколько копий одной и той же плазмиды. В этом контексте плазмиды могут содержать несколько генов и реплицироваться автономно. Генетическая информация о плазидах дает хозяевам эволюционные преимущества, такие как устойчивость к антибиотикам или создание новых источников пищи. Клетки-хозяева имеют эволюционные преимущества перед другими бактериями и поэтому могут лучше размножаться. Бактерии и плазмиды живут в симбиозе. Если плазида имеет недостатки, это может привести к гибели клетки-хозяина. Благодаря своим свойствам, плазмиды также используются в биотехнологиях и исследованиях. Чтобы получить определенную плазмиду, должны быть вырезаны необходимые гены (последовательности ДНК) и собраны вместе. Белки, которые могут разрезать ДНК называются рестриктазами. Эти ферменты есть во всех живых организмах. Подходящие ферменты

выбираются таким образом, чтобы ДНК была разрезана точно в нужном месте. Некоторые ферменты в одной точке гладко разрезают обе нити ДНК, образуя «тупые концы», а некоторые слегка смещены, создавая «липкие концы», которые способствуют сборке плазмиды.

Хранение. Благодаря тому, что образцы ДНК лиофилизированы, они очень стабильны и могут храниться при комнатной температуре в течение нескольких дней. То же самое относится и к другим компонентам комплекта. Тем не менее, рекомендуется хранить содержимое комплекта в холодильнике, за исключением агарозы и буфера ТАЕ.

Подготовка. ДНК растворяются в буфере загрузки геля настолько стерильно, насколько это возможно, согласно прописи:

- 1) pBR322 ДНК, без надрезов + добавление 110 мкл буфера для загрузки геля.
- 2) pBR322 ДНК, разрез Eco RI + добавление 130 мкл буфера для загрузки геля.
- 3) pBR322 ДНК, разрез Hinf I + добавление 110 мкл буфера для загрузки геля.
- 4) pBR322 ДНК, разрез Hae III + добавление 110 мкл буфера для загрузки геля.

Процесс растворения занимает прибл. 15 минут, время от времени энергично перемешивайте емкости с помощью магнитной мешалки или энергично встряхивайте рукой. В конце процесса растворения постучите трубкой по столу, чтобы вся жидкость снова собралась на дне трубки. ДНК также можно растворить на ночь в холодильнике, чтобы растворенная ДНК была доступна сразу на следующий день.

Подготовленные для электрофореза образцы можно хранить в холодильнике несколько дней на случай, если электрофорез будет проведен позже. Для более длительного хранения образцы следует заморозить при -20°C . Буфер для загрузки геля используется для "взвешивания" молекул ДНК, чтобы они лучше погружались в подготовленный гель. Краситель в буфере для загрузки геля облегчает пипетирование в подготовленный гель, а также используется для контроля за ходом электрофореза. Лиофилизованная ДНК прозрачна и поэтому почти не видна в сосудах (прозрачная пленка). Окрашивание следует проводить

сразу же после гель-электрофореза, иначе полосы ДНК диффундируют в геле и становятся размытыми.

Необходимые ферменты рестрикции можно приобрести в специализированных магазинах.

1. Приготовьте 1,5 % агарозный гель: обратите внимание, что таблетка агарозы уже содержит агарозу, флуоресцентный краситель и соль TBE, поэтому нужно добавлять только деионизированную воду. Используйте инструкции по применению таблеток. Разбавьте 10-кратный концентрированный концентрат буфера TBE до 1х деионизированной водой (на один гель требуется около 30 мл буфера).

Приготовьте 1,5% агарозный гель. **Внимание: одной таблетки достаточно для двух 1% гелей.**

а. Выньте из упаковки таблетку с агарозой GelGreen и поместите ее в колбу Эрленмейера.

б. Добавьте в таблетку 40 мл деионизированной воды и вскипятите (в микроволновой печи или на электроплитке).

в. Поместите стеклянную емкость для геля в платформу для заливки, а гребень - в емкость для геля (гребень находится под платформой для заливки). Используйте сторону гребня с большими зубцами.

Теперь налейте в чашу 20 мл жидкого геля и дайте ему застыть (около 10 минут).

После остывания геля осторожно вертикально вытащите гребень из геля. Поместите емкость с гелем в буферную камеру базового блока. Заполните буферную камеру 1х TBE, чтобы гель заполнил поверхность камеры.

2. Загрузите образцы ДНК в подготовленный гель и начните электрофорез.

Загрузка и запуск геля:

Возьмите пипетку объемом 2 мкл–20 мкл на 7 мкл и наденьте на нее желтый наконечник.

Загрузите четыре образца ДНК в гель в следующем порядке:

1. pBR322 ДНК, без надрезов
2. pBR322 ДНК, разрез Eco RI
3. pBR322 ДНК, разрез Hinf I
4. pBR322 ДНК, разрез Xae III

Теперь аспирируйте (наберите) 7 мкл в наконечник с помощью пипетки и осторожно переносите содержимое в ячейку. Повторите процесс и меняйте после каждого образца наконечник, чтобы не допустить загрязнения образцов друг другом.

Запуск геля. Закройте базовый блок крышкой и включите его, нажав кнопку "Вкл /Выкл". Разверните "черную камеру" и аккуратно наденьте ее на крышку. Нажав кнопку "Свет", активируете синий свет и следите за разделением образцов. С помощью смартфона или планшета задокументируйте разделение на пленке или сделайте фотографии и видео. Разделение завершается примерно через 20 минут.

3. Сравните рисунок полос разрезанной плазмиды с аналогичным рисунком полос неразрезанной плазмиды. **(Сравните свои результаты с таблицей и показанной фотографией).** Размеры фрагментов с оптимальным окрашиванием и разделением (задаются в парах оснований, bp).

pBR322-ДНК ЭкоRI	pBR322-ДНК HinfI	pBR322-ДНК XaeIII
4.361	1.632	587
	517	540
	504	502
	396	458
	344	434
	298	267
	221	234
	220	213

Выводы:

Лабораторная работа № 18

Тема: Генетическое дактилоскопирование

Цель: познакомиться с методами обнаружения ДНК

Опыт 1. Генетическое дактилоскопирование

Приготовьте 1% агарозный гель как указано в лабораторной работе 17 и загрузите образцы ДНК в ячейки.

Загрузка и запуск геля

Возьмите пипетку объемом 2 мкл - 20 мкл на 7 мкл и наденьте на пипетку желтый наконечник.

Загрузите четыре образца ДНК в гель в следующем порядке:

1. ДНК с места преступления
2. ДНК жертвы
3. ДНК подозреваемого №1
4. ДНК подозреваемого №2

Теперь аспирируйте (наберите) 7 мкл в наконечник с помощью пипетки и осторожно переносите содержимое в ячейку.

Загрузка и запуск геля

Повторите процесс и меняйте после каждого образца наконечник, чтобы не допустить загрязнения образцов друг другом.

Начните электрофорез.

Запуск геля. Закройте базовый блок крышкой и включите нажав кнопку "Вкл / Выкл".

Разверните «черную камеру» и аккуратно наденьте ее на крышку.

Нажав кнопку «Свет», активируете синий свет и следите за разделением образцов. С помощью смартфона или планшета задокументируйте разделение на пленке или сделайте фотографии и видео.

Разделение завершается примерно через 20 минут.

3. Сравните образцы ДНК и попытайтесь вычислить преступника.

ДНК жертвы	ДНК на месте преступления	ДНК Подозреваемого 1	ДНК Подозреваемого 2
23.100	21.200	21.200	21.200
5.100	7.400	5.100	7.400
5.000	5.800	5.000	5.800
4.300	5.600	4.300	5.600
2.300	4.800	3.500	4.800
2 000	3 500	2 000	3 500

Опыт 2. Тест на отцовство.

Ребенок действительно мой? Меня усыновили? Методы молекулярной биологии, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и электрофорез в агарозном геле, могут дать четкий ответ на эти вопросы.

Обычно у каждого человека 46 хромосом. По 23 от матери и отца. За исключением половых хромосом (X- и Y-хромосомы), пары хромосом несут практически одинаковую генетическую информацию. Однако часто существуют небольшие вариации, и поэтому оба гена присутствуют в разных аллелях. Эти небольшие различия в кодировании и особенно в некодирующих областях генома приводят к индивидуальности генетического материала каждого человека (исключение: однояйцевые близнецы). В ходе этого эксперимента студенты должны узнать и понять, как работает гель-электрофорез. С помощью этого метода ДНК разделяется по размеру и становится видимой.

Студенты готовят агарозный гель заданной концентрации и применяют различные образцы ДНК. Разделение можно наблюдать в реальном времени, самостоятельно задокументировав его с помощью смартфона или планшета и передав эти данные на компьютер.

Затем они могут определить, является ли ребенок генетическим наследником обоих родителей.

Инструкции по подготовке и выполнению работы. Введение в систему BlueGel.

Заливка геля, сборка системы и разделение ДНК проводим как в лабораторной работе 17. Эксперимент также можно проводить на гелях, состоящих из отдельных компонентов (агароза, TBE или TAE), и полосах ДНК, окрашенных раствором метиленового синего. Однако здесь невозможно наблюдать разделение в реальном времени.

Поскольку пипетирование - непростая задача, рекомендуется заранее отработать эту процедуру со студентами с помощью специальных карт, входящих в состав набора. К этому эксперименту применяются общие инструкции по безопасному проведению экспериментов при преподавании естественных наук. Правила работы с опасными веществами приведены в соответствующих паспортах безопасности.

SYBR-Green, используемый в таблетках GelGreen, является безопасной альтернативой обычному бромистому этидию. Он не проникает через кожу, но может проникать в ткани через открытые раны. Поэтому рекомендуется использовать перчатки.

Агарозный гель, изготовленный из GelGreen таблетки может быть утилизирован с обычным бытовым мусором.

Загрузка и запуск геля:

Возьмите пипетку объемом 2 мкл–20 мкл на 9 мкл и наденьте на нее желтый наконечник.

Загрузите три образца ДНК в гель в следующем порядке.

1. Лямбда-ДНК матери
2. Лямбда-ДНК, ребенка
3. Лямбда-ДНК, потенциального отца

Теперь аспирируйте (наберите) 9 мкл в наконечник с помощью пипетки и осторожно переносите содержимое в ячейку. Повторите процесс и меняйте после каждого образца наконечник, чтобы не допустить загрязнения образцов друг другом.

Запуск геля

Закройте базовый блок крышкой и включите нажав кнопку "Вкл / Выкл".

Разверните "черную камеру" и аккуратно наденьте ее на крышку.

Нажав кнопку "Свет", активируете синий свет и следите за разделением образцов. С помощью смартфона или планшета задокументируйте разделение на пленке или сделайте фотографии и видео. Разделение завершается примерно через 20 минут.

Сравните Ваши результаты с таблицей и изображенной фотографией

Размеры фрагментов с оптимальным окрашиванием и разделением (задаются в парах оснований, bp)

ДНК матери	ДНК ребёнка	ДНК потенц. отца
21.200	23.100	23.100
7.400	21.200	9.400
5.800	9.400	6.500
4.800	7.400	4.300
3.500	6.500	2.300
	5.800	2.000
	5.600	
	4.800	

Выводы:

Раздел 5. ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ САМОРЕГУЛЯЦИИ

Лабораторная работа № 19

Тема: Низкомолекулярные метаболиты

Цель: Обнаружить алкалоиды, дубильные вещества и гормоны в растительных объектах.

Оборудование и реактивы: штатив с пробирками, фильтровальная бумага, воронка для фильтрования; раствор йода в йодиде калия, раствор танина, раствор соляной кислоты (10%), серная кислота (раствор), сульфат железа (II),

Объекты исследования: перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы, кора дуба, ивы, листья брусники и облепихи, растворы адреналина и инсулина.

Ход работы:

Опыт 1: Обнаружение алкалоидов.

1. Готовят водную вытяжку из исследуемых объектов (перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы).

2. Вытяжку фильтруют.

3. Фильтр подкисляют и обрабатывают раствором йода в йодиде калия.

Наблюдают образование шоколадно-коричневого осадка двойной соли алкалоидов. При этом, скорость развития осадка и его количества различны, т.к. различно содержание алкалоидов в исследуемых объектах.

Результаты исследования оформляют в виде таблицы, поскольку данная методика позволяет провести качественный анализ. Данные о процентном содержании алкалоидов в растениях берут из литературы.

4. Раствор танина (1 г танина, 1 г спирта и 8 частей воды) подкисляют серной кислотой. Алкалоиды выпадают в осадок.

5. На млечный сок семейства маковых (мак, чистотел) действуют 10%-ным раствором соляной кислоты. Выпадают кристаллики в виде звездочек, призм, игл, окрашенные в оранжевый или желто-коричневый цвет. Реакция наглядна на свежем материале.

Опыт 2: Обнаружение дубильных веществ.

Для приготовления отваров растительного сырья (коры дуба, ивы, листьев брусники, облепихи) материал измельчают (размер частиц 3-5 мм) помещают сырье в эмалированную посуду, добавляют воды (1:10), накрывают крышкой и ставят на водяную баню. Если сырье - стебли и листья растений, то время приготовления 15 минут, если кора или корни - 30 минут. Раствор охладить, процедить и использовать в работе.

К полученным растворам приливают несколько капель водного раствора сульфата железа (II). В присутствии дубильных веществ жидкость становится почти черной или приобретает синевато-зеленоватый оттенок.

Выводы:

Раздел 6. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА БИОТЕХНОЛОГИИ

Лабораторная работа № 20

Тема: Приготовление питательной среды

Цель работы: ознакомиться с составом питательной среды MS и порядком ее приготовления.

Материалы и оборудование: NH_4NO_3 , KNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KJ, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, мезоинозит, глицин, никотиновая кислота, пиримидин-НСl, тиамин-НСl, сахароза, 2,4-Д, ИУК, кинетин, дистиллированная вода, 0,1 н раствор HCl, 0,1 н раствор KOH, лотки для взвешивания, шпатели, химические стаканчики, мензурки, склянки для хранения растворов, автоматические дозаторы на 1–10 мл, 100–1000 мкл, 1–20 мкл, наконечники для автоматических дозаторов, аналитические весы, pH-метр.

Среда по прописи Мурасиге и Скуга (MS) – наиболее универсальная и многоцелевая среда, пригодная для культивирования клеток и тканей многих видов растений. Была предложена Тошио Мурасиге и Фольке Скугом в 1962 г. для каллусной ткани табака сорта «Висконсин». Отличительной особенностью питательной среды MS является высокое содержание аммонийного и нитратного азота.

Опыт 1. Ознакомиться с составом питательной среды MS.

Записывают в тетрадь состав питательной среды MS, выделяя следующие группы компонентов: макроэлементы, микроэлементы, витамины и органические добавки. Производят расчет молярных концентраций компонентов питательной среды MS. Результаты заносят в таблицу.

Опыт 2. Приготовить маточные растворы и питательную среду MS, содержащую 30 г/л сахарозы и фитогормоны.

Рассчитывают навески солей для приготовления маточных растворов в соответствии с необходимыми объемами. Готовят маточные растворы компонентов питательной среды MS. В процессе приготовления маточных растворов макро- и микроэлементов важно соблюдать приведенный в прописи порядок добавления солей.

Ход работы:

1 В мерный стакан помещают навеску сахарозы, растворяют в небольшом количестве воды.

2 Добавляют необходимые количества маточных растворов макросолей, микросолей, витаминов и органических добавок, фитогормонов.

3 Дистиллированной водой доводят объем до необходимого значения.

4 Измеряют pH раствора. С помощью 0,1 н раствора КОН либо 0,1 н раствора HCl доводят его до уровня 5,8.

Разливают среду порциями в чистые конические колбы. Количество питательной среды в колбе не должно превышать 1/2 либо 2/3 ее объема. Например, в колбу объемом 500 мл добавляют не более 300 мл питательной среды.

5 Добавляют агар-агар из расчета 8 г/л, колбы закрывают сверху алюминиевой фольгой, чехлом из бумаги.

Выводы:

Лабораторная работа № 21-22

Тема: Получение каллусной ткани из листьев

Для растения *in vitro* каллус – это группа клеток, возникающая при травмах и защищающая место поранения (раневая паренхима). В ней накапливаются питательные вещества для регенерации анатомических структур или утраченного органа. На питательных средах с большим содержанием ауксинов (2,4-Д) клетки экспланта дедифференцируются. Клетки утрачивают прежние функции и морфологию. Особенности дедифференциации клеток экспланта зависят от генетики экспланта. Причем чем менее дифференцирована клетка, тем легче получить каллус. Дедифференциация специализированных клеток начинается с обогащения их элементами цитоплазмы: микротрубочками, мембранами ЭПС и комплекса Гольджи, рибосомами; исчезают хлоро- и хромопласты, продукты их деятельности; может образоваться много ядер или увеличиться число хромосом; укрупняются вакуоли. Каллус, выращиваемый поверхностным способом, представляет собой аморфную массу тонкостенных паренхимных клеток, не имеющую строго определенной структуры. Клетки каллуса либо бесцветны, либо имеют желтоватый оттенок. В зависимости от происхождения и условий культивирования, различают каллусы: рыхлые, с сильно оводненными, легко отделяющимися друг от друга клетками; средней плотности, с зонами меристематической активности; плотные, с зонами редуцированного камбия и сосудов.

В биотехнологии чаще всего используют те виды растений, которые и в обычных условиях легко укореняются, регенерируют, образуют каллус. Клетки табака легко дедифференцируются и переходят к делению, образуя быстрорастущую каллусную ткань. Поэтому большинство методов получения и культивирования каллуса разработано для табака. Каллусы можно получить практически из любой части растения. Для культивирования каллусов из листьев табака используют среду Мурасиге — Скуга (МС) с добавлением ауксинов (2,4-Д).

Цель: освоить метод приготовления питательной среды для получения каллусной культуры табака.

Оборудование и реактивы: чашки Петри со стерильной питательной средой МС для индукций каллусогенеза, 6%-й раствор хлорамина, колбы со стерильной дистиллированной водой.

Объект исследования: растения табака.

Приготовление маточных растворов для среды Мурасиге – Скуга (МС) (с. 409. Загоскина и Назаренко. 2020).

Ход работы.

Приготовить питательные среды МС с добавлением:

а) 1,0 мг/л 2,4-Д + 0,2 мг/л БАП; б) 1,0 мг/л ПУК + 0,2 мг/л БАП. Листья табака поместить в дезинфицирующий раствор на 5 мин, затем промыть стерильной дистиллированной водой три раза. Стерильным скальпелем вырезать сегменты у основания листа ближе к центральной жилке длиной 1,5-2 см, шириной 1 см. Для лучшего каллусообразования делают насечки по всей поверхности сегмента. Поместить экспланты на питательные среды (перед каждой манипуляцией инструменты обрабатывать спиртом и обжигать на пламени спиртовки). Чашки Петри с эксплантами перенести в термостат для индукций каллусогенеза при температуре 25 °С.

Задание. Результаты опыта рассмотреть через две – четыре недели, зарисовать, сравнить каллус, полученный на среде с ПУК, с каллусом, полученным в среде с 2,4-Д.

Выводы.

6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ (САМОКОНТРОЛЯ) УСВОЕННОГО МАТЕРИАЛА

6.1 Оценочные средства, показатели и критерии оценивания компетенций

Индекс компетенции	Оценочное средство	Показатели оценивания	Критерии оценивания сформированности компетенций
УК-1 ОПК-8 ПК-2	Отчет по лабораторной работе	Низкий уровень – неудовлетворительно «2»	ставится, если студент допустил 3-4 ошибки (в проведении лабораторной работы, в объяснении, в оформлении наблюдений и выводов, по технике безопасности), которые не исправляются даже по указанию преподавателя.
		Пороговый уровень – удовлетворительно «3»	а) если студентом допущены одна-две существенные ошибки (в ходе эксперимента, в объяснении, в оформлении работы, по технике безопасности, в работе с веществами и приборами), которые исправляются с помощью преподавателя; б) подбор оборудования, объектов, материалов, а также работы по началу опыта провел с помощью преподавателя; в) в ходе проведения опыта и измерений были допущены ошибки в описании наблюдений, формулировании выводов; г) допускает грубую ошибку в ходе эксперимента (в объяснении, в оформлении работы, в соблюдении правил техники безопасности при работе с материалами и оборудованием), которая исправляется по требованию преподавателя.

		Базовый уровень – хорошо «4»	а) работа выполнена правильно, без существенных ошибок, сделаны выводы; б) допустимы: неполнота проведения или оформления эксперимента, одна-две несущественные ошибки в проведении или оформлении эксперимента, в правилах работы с веществами и приборами.
		Высокий уровень – отлично «5»	а) работа выполнена полно, научно грамотно, логично описаны наблюдения; правильно, без существенных ошибок, поставлена цель и сделаны выводы; б) эксперимент осуществлен по плану с учетом техники безопасности и правил работы с веществами и приборами; в) имеются организационные навыки (поддерживается чистота рабочего места и порядок на столе, экономно используются реактивы); г) в представленном отчете правильно и аккуратно выполнил все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления и правильно выполнил анализ погрешностей.
	Тест	Низкий уровень – до 60 баллов (неудовлетворительно)	за верно выполненное задание тестируемый получает максимальное количество баллов, предусмотренное для этого задания, за неверно выполненное – ноль баллов. После прохождения теста суммируются результаты выполнения всех заданий. Подсчитывается процент правильно выполненных заданий теста, после чего этот процент переводится в оценку, руководствуясь указанными критериями оценивания.
		Пороговый уровень – 61-75 баллов (удовлетворительно)	
		Базовый уровень – 76-84 баллов (хорошо)	
		Высокий уровень – 85-100 баллов (отлично)	
УК-1 ОПК-8 ПК-2	Устный и письменный опрос на лабораторном занятии	Низкий уровень – неудовлетворительно «2»	Студент обнаруживает незнание большей части соответствующего вопроса, допускает ошибки в формулировке определений, искажающие их смысл, беспорядочно и неуверенно излагает материал. Оценка «неудовлетворительно» отмечает такие недостатки в подготовке, которые являются серьезным препятствием к успешному овладению последующим материалом.
		Пороговый уровень – удовлетворительно «3»	Студент обнаруживает знание и понимание основных положений вопроса, но: 1) излагает материал неполно и допускает неточности в определении понятий или формулировке правил;

			2) не умеет достаточно глубоко и доказательно обосновать свои суждения и привести свои примеры; 3) излагает материал непоследовательно и допускает ошибки в языковом оформлении излагаемого.
		Базовый уровень – хорошо «4»	1) в ответе допущены малозначительные ошибки и недостаточно полно раскрыто содержание вопроса; 2) если допущено 1-2 недочета в последовательности и языковом оформлении излагаемого.
		Высокий уровень – отлично «5»	1) студент полно излагает материал, дает правильное определение основных понятий; 2) обнаруживает понимание материала, может обосновать свои суждения, применить знания на практике, привести необходимые примеры не только из учебника, но и самостоятельно составленные; 3) излагает материал последовательно и правильно с точки зрения норм литературного языка.
	Самостоятельные письменные работы (серии)	Низкий уровень – неудовлетворительно «2»	студент допустил число ошибок и недочетов превосходящее норму, при которой может быть выставлена оценка «3»
		Пороговый уровень – удовлетворительно «3»	студент правильно выполнил не менее половины работы или допустил: не более двух грубых ошибок; или не более одной грубой и одной негрубой ошибки и одного недочета; или не более двух-трех негрубых ошибок; или одной негрубой ошибки и трех недочетов; или при отсутствии ошибок, но при наличии четырех-пяти недочетов.
		Базовый уровень – хорошо «4»	студент выполнил работу полностью, но допустил в ней: не более одной негрубой ошибки и одного недочета или не более двух недочетов
		Высокий уровень – отлично «5»	работа выполнена без ошибок, указаны все формулы, ферменты, протекающие реакции приведены полностью.

6.2 Промежуточная аттестация студентов по дисциплине

Промежуточная аттестация является проверкой всех знаний, навыков и умений студентов, приобретённых в процессе изучения дисциплины. Формой промежуточной аттестации по дисциплине является экзамен.

Для оценивания результатов освоения дисциплины применяются следующие критерии оценивания.

Критерии оценивания устного ответа на экзамене

Оценка «5» (отлично) ставится, если студент:

1. полно раскрыто содержание материала билета;
2. материал изложен грамотно, в определенной логической последовательности, точно используется терминология;
3. показано умение иллюстрировать теоретические положения конкретными примерами, применять их в новой ситуации;

4. продемонстрировано усвоение ранее изученных сопутствующих вопросов, сформированность и устойчивость компетенций, умений и навыков;
5. ответ прозвучал самостоятельно, без наводящих вопросов;
6. допущены одна – две неточности при освещении второстепенных вопросов, которые исправляются по замечанию.

7. правильно решена расчетная задача.

Оценка «4» (хорошо) ставится, если:

ответ студента удовлетворяет в основном требованиям на оценку «5», но при этом имеет один из недостатков:

1. в изложении допущены небольшие пробелы, не исказившие содержание ответа;
2. допущены один – два недочета при освещении основного содержания ответа, исправленные по замечанию экзаменатора;
3. допущены ошибка или более двух недочетов при освещении второстепенных вопросов, которые легко исправляются по замечанию экзаменатора.
4. в расчетной задаче допущена ошибка.

Оценка «3» (удовлетворительно) ставится, если:

1. неполно или непоследовательно раскрыто содержание материала, но показано общее понимание вопроса и продемонстрированы умения, достаточные для дальнейшего усвоения материала;
2. имелись затруднения или допущены ошибки в определении понятий, использовании терминологии, исправленные после нескольких наводящих вопросов;
3. при неполном знании теоретического материала выявлена недостаточная сформированность компетенций, умений и навыков, студент не может применить теорию в новой ситуации.
4. решение расчетной задачи вызывает затруднения.

Оценка «2» (неудовлетворительно) ставится, если:

1. не раскрыто основное содержание учебного материала;
2. обнаружено незнание или непонимание большей или наиболее важной части учебного материала;
3. допущены ошибки в определении понятий, при использовании терминологии, которые не исправлены после нескольких наводящих вопросов.
4. не сформированы компетенции, умения и навыки.
5. расчетная задача не решена.

6.3 Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценки результатов освоения дисциплины

Примеры тестовых заданий

Тест по молекулярной биологии №1 (Входной контроль)

Инструкция для студента

Тест содержит 25 заданий, из них 15 заданий – часть А, 5 заданий – часть В, 5 заданий – часть С. На его выполнение отводится 90 минут. Если задание не удастся выполнить сразу, перейдите к следующему. Если останется время, вернитесь к пропущенным заданиям. Верно выполненные задания части А оцениваются в 2 балла, части В – 2 балла, части С – 5 баллов.

Часть А

К каждому заданию части А даны несколько ответов, из которых только один верный. Выполнив задание, выберите верный ответ и укажите в бланке ответов.

А 1. Какая аминокислота в водном растворе имеет суммарный положительный заряд:

а) серин; б) глутаминовая кислота; в) лизин; г) лейцин; д) аспарагин.

А 2. Найдите правильный ответ: вазопрессин – это

- а) антибиотик, активный против пневмококков.
- б) циклический декапептид.
- в) продукт, образующийся при гидролизе белков.
- г) гормон, стимулирующий сокращение гладких мышц кровеносных сосудов и регулирует водный обмен.

д) ядовитое вещество, которое выводится из организма.

А 3. Какое утверждение неправильное:

- а) α – спиральная конформация полипептидной цепи характеризуется предельно плотной упаковкой.
- б) на каждый виток правозакрученной α – спирали приходится 3,6 аминокислотных остатков.
- в) на свойства белков не влияют изменения рН и температуры среды.
- г) вирус табачной мозаики состоит из большого числа субъединиц.
- д) в формировании α – спирали и β – структуры главная роль принадлежит водородным связям.

А 4. Полиневрит – это

- а) B_1 – авитаминоз.
- б) полиавитаминоз, вызванный отсутствием витаминов РР и B_6 и зависящий от количества триптофана в диете.
- в) нарушение нормального отложения фосфата кальция в костной ткани из – за отсутствия кальциферолов.
- г) болезнь, выражающаяся в повышении проницаемости и хрупкости кровеносных сосудов вследствие недостаточности витамина.
- д) заболевание роговицы глаза, вызванное авитаминозом.

А 5. Каталитический центр – это:

- а) участок молекулы фермента, в результате присоединения к которому какого – либо вещества изменяется третичная структура молекулы фермента и , как следствие этого, изменяется каталитическая активность.
- б) участок молекулы фермента, ответственный за присоединение вещества, подвергающегося ферментативному превращению.
- в) комплекс нескольких ферментов работающих как единый энзим.
- г) участок молекулы фермента, ответственный одновременно и за присоединение субстрата, и за осуществление каталитического процесса.
- д) уникальное сочетание аминокислотных остатков, располагающихся в какой – то части белковой молекулы и принимающих непосредственное участие в осуществлении каталитического процесса.

А 6. Каталаза ускоряет реакцию:

- а) $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2 H_2O + A$
- б) $AH_2 + O_2 \rightarrow A + H_2O_2$
- в) $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$
- г) $AH_2 + B \rightarrow A + BH_2$
- д) $R - CH_2 - CH(OH) - R' \leftrightarrow R - CH = CH - R' + H_2O$.

А 7. Соединением, содержащим макроэргическую связь, является:

- а) глюкозо-6-фосфат; б) глицин; в) глицерофосфат;
- г) янтарная кислота; д) ацетил – Ко А.

А 8. ФАД

- а) Кофермент дегидрогеназ.
- б) Кофермент аминотрансфераз.
- в) Кофермент декарбоксилаз кетокислот.
- г) Кофермент ацилтрансфераз.
- д) Кофермент карбоксилаз.

А 9. По количественному содержанию в биологических объектах первое место принадлежит:

- а) белкам
- б) воде
- в) углеводам
- г) липидам
- д) минеральным веществам

А 10. Найдите неправильное утверждение: в ходе ферментативного катализа при образовании фермент – субстратного комплекса:

- а) Изменяется конформация субстрата.
- б) Образуются нековалентные связи между ферментом и субстратом.
- в) Сближаются функциональные группы участвующие в катализе.
- г) Изменяется порядок соединения аминокислот.
- д) Усиливается комплементарность между ферментом и субстратом.

А 11. Выберите фермент, катализирующий реакцию, непосредственно сопряжённую с синтезом АТФ в митохондриях:

- а) АТФ – синтаза.
- б) NADH – дегидрогеназа
- в) QH₂ – дегидрогеназа.
- г) NAD – зависимая дегидрогеназа.
- д) Цитохромоксидаза.

А 12. В организме основное количество холестерина используется на:

- а) Синтез желчных кислот.
- б) Построение мембран.
- в) Образование кортикостероидов.
- г) Синтез витамина D₃.
- д) Образование половых гормонов.

А 13. Фермент пепсин ускоряет реакцию:

- а) гидролиза белков б) гидролиза жиров
- в) гидролиза крахмала
- г) гидролиза лактозы
- д) гидролиза целлюлозы

А 14. Центральным метаболитом обмена веществ и энергии является

- а) Аминоуксусная кислота.
- б) Мочевая кислота.
- в) Молочная кислота.
- г) Активная уксусная кислота.
- д) Глюкоза.

Часть В

Будьте внимательны! Задания части В могут быть трех типов:

- 1) задания, содержащие несколько верных ответов;**
- 2) задания на установление соответствия;**
- 3) задания, ответ на которые должен быть дан в виде числа, символа, слова**

В 1. Аминокислоты, способные образовывать ионную связь с лизином.

- а) Глицин.
- б) Аспарагиновая кислота.
- в) Лейцин.
- г) Аргинин.
- д) Глутаминовая кислота

В 2. Установите соответствие между классами ферментов и их реакциями:

1. Оксидоредуктазы
2. Гидролазы

3. Изомерахзы
 4. Декарбоксилазы
 - а) Взаимопревращения субстратов.
 - б) Окислительно – восстановительные.
 - в) Гидролитического распада.
 - г) Переноса функциональных групп
- В 3. К стероидным гормонам относятся:

- а) адреналин,
- б) андрогены,
- в) инсулин,
- г) кортизол,
- д) тестостерон

В 4. Определите суммарный заряд пептида при pH 7,0: Глу – Лиз – Вал – Асп.

В 5. Сколько молекул АТФ образуется при аэробном окислении глюкозы.

Часть С

Ответы к заданиям части С формулируете в свободной краткой форме и записываете в бланк ответов.

- С 1. Укажите составные компоненты фермента декарбоксилазы.
- С 2. Перечислите основные этапы гликолиза.
- С 3. Укажите условия работы ферментов в ротовой полости.
- С 4. Напишите гидролиз АТФ и укажите какие вещества входят в ее состав.
- С 5. Напишите механизм образования трипептида: Гли – Лиз – Фен

Тест по молекулярной биологии №1

Инструкция для студента

Тест содержит 25 заданий, из них 15 заданий – часть А, 5 заданий – часть В, 5 заданий – часть С. На его выполнение отводится 90 минут. Если задание не удастся выполнить сразу, перейдите к следующему. Если останется время, вернитесь к пропущенным заданиям. Верно выполненные задания части А оцениваются в 2 балла, части В – 2 балла, части С – 5 баллов.

Часть А

К каждому заданию части А даны несколько ответов, из которых только один верный. Выполнив задание, выберите верный ответ и укажите в бланке ответов.

Заполните пропуски в следующих утверждениях:

А. 1. Вирусы, инфицирующие бактерии, называются:

- а) бактериофаги
- б) вириды
- в) ретровирусы
- г) плазмиды

А. 2. В состав ДНК входит углевод:

- а) Рибоза
- б) глюкоза
- в) дезоксирибоза
- г) галактоза

А. 3. Белки относительно небольшого размера, несущие много положительно заряженных аминокислот. Положительный заряд способствует тому, что такие белки тесно связываются с ДНК независимо от ее нуклеотидного состава, они называются:

- а) гистоны
- б) глобулины
- в) SBS – белки

- г) проламины
- д) протамины

А. 4. Тандемные повторы простой последовательности выделенные из суммарной клеточной ДНК как минорные компоненты, повторённые до миллиона раз на геном называют

- а) уникальные гены
- б) палиндромы
- в) сателлитная ДНК
- г) фрагменты Оказаки

А. 5. Комплементарна матрице:

- а) Пре -мРНК.
- б) Зрелая мРНК.
- в) Оба.
- г) Ни один.

А. 6. Наиболее стабильная структура ДНК, открытая Уотсоном и Криком – это так называемая

- а) В-форма ДНК,
- б) А-форма ДНК
- в) Z-форма ДНК
- г) SBS-форма ДНК

А. 7. При добавлении к 5'-концу первичного транскрипта метилированного нуклеотида G образуется фрагмент, который, по-видимому, защищает растущую РНК от деградации, играет важную роль в инициации синтеза белка и называется:

- а) поли-А,
- б) промотор
- в) КЭП
- г) интрон

А. 8. Фермент, ответственный за синтез ДНК при репликации называется

- а) ДНК-праймаза
- б) ДНК-полимераза1
- в) ДНК-полимераза11
- г) ДНК-полимераза111

А. 9. В каком направлении идет синтез ДНК при репликации:

- а) 5' - 3'
- б) 3' - 5'
- в) 1' - 3'
- г) 3' - 1'

А. 10. Белки, связывающиеся с одноцепочечной ДНК в репликативной вилке, держат две цепи ДНК разделенными посредством присоединения к их фосфатным остовам, при этом основания остаются свободными, так что они могут служить матрицей для синтеза ДНК, называются:

- а) Хеликаза
- б) топоизомераза
- в) SSB
- г) праймаза

А. 11. После удаления интронной последовательности кодирующие последовательности РНК по обеим сторонам интрона соединяются друг с другом в ходе реакции, известной под названием:

- а) транспептидирование
- б) кэпирования
- в) полиаденирования
- г) сплайсинг

А. 12. Сигма-субъединица РНК-полимеразы *E. coli* играет особую роль в транскрипции, являясь фактором инициации она позволяет ферменту находить обобщенную последовательность, которая называется:

- а) промотор
- б) оператор
- в) ген регулятор
- г) энхансер

А. 13. У *E. coli* любая остановка репликации, вызванная повреждением ДНК, служит сигналом для процесса, позволяющего преодолеть блок репликации и тем самым дающего клетке шанс на выживание. Этот процесс называется:

- а) транскрипция
- б) трансляция
- в) процессинг
- г) репарация

А. 14. Рибосомы прокариот имеют коэффициент седиментации:

- а) 30S
- б) 50S
- в) 70S
- г) 80S

А. 15. Участок ДНК, к которому присоединяется белок – репрессор.

- а) Промотор.
- б) Оператор.
- в) Ген – регулятор.
- г) Оперон.

Часть В

Будьте внимательны! Задания части В могут быть трех типов:

- 1) задания, содержащие несколько верных ответов;**
- 2) задания на установление соответствия;**
- 3) задания, ответ на которые должен быть дан в виде числа, символа, слова**

В. 1. Установите соответствие:

- | | |
|---|----------------|
| 1. Нуклеаза. | А. Рестриктаза |
| 2. Гидролизует N-гликозидную связь. | Б. РНКаза. |
| 3. Одновременно расщепляет обе цепи ДНК. | В. Оба. |
| 4. Гидролизует 3'-5'-фосфодиэфирную связь в одноцепочечной молекуле | Г. Ни один |

В. 2. Укажите сходство ДНК и РНК в азотистых основаниях:

- а) аденин
- б) гуанин

- в) цитозин
- г) тимин
- д) урацил

В. 3. Фермент, который сшивает разрывы в ДНК во время синтеза ДНК или ее репарации, называется:

- В. 4. _____ ДНК иницируется на определенной последовательности ДНК, которая называется точкой начала инициации.
- В. 5. Независимо реплицирующие элементы, называемые _____, могут реплицироваться произвольно вне хромосомы клетки-хозяина

Часть С

Ответы к заданиям части С формулируете в свободной краткой форме и записываете в бланк ответов.

- С.1. Какой процесс называется транскрипцией?
- С.2. Что такое первичная структура ДНК
- С. 3. Что такое интроны?
- С.4. Опишите строение лактозного оперона.
- С.5. В чем причина серповидноклеточной анемии?

Образец вопросов для устного или письменного опроса на практическом занятии Контрольная работа к разделу 1 «Биомолекулы»

Вариант 1

1. Напишите образование пептида ала-асп-тир. Каков суммарный заряд пептида в кислой, щелочной и нейтральной среде. Укажите роль этих процессов.
2. Строение и механизм действия декарбоксилазы. Что такое активный центр ферментов?
3. Что понимают под третичной структурой белка гемоглобина. Какова ее роль? Какие виды взаимодействий поддерживают третичную структуру белковой молекулы? Приведите примеры формулами.
4. Витамин В1.
5. Половые гормоны

Вопросы дискуссии по теме 2.2 Биологическое окисление.

1. Теория активирования кислорода К. Шенбайна;
2. Перекисная теория А.Н. Баха;
3. Концепция дыхательных хромогенов В.И. Палладина и Х. Виланда;
4. Выделение и характеристика разнообразных дегидрогеназ;
5. Обнаружение цитохромов и цитохромоксидазы (Д. Кейлин и О. Варбург) и признание цитохромной системы доминирующей терминальной дыхательной системы;
6. Открытие явления окислительного фосфорилирования (В.А. Энгельгардт).

Образец задания для письменной самостоятельной работы (серии)

Раздел 4 Молекулярные механизмы передачи наследственной информации

1. Укажите порядок нуклеотидов в цепи ДНК, образующейся путем самокопирования цепи АГТА ЦЦГАТАТА ЦЦГАТТГАЦГ...
2. Молекула ДНК распалась на две цепочки. Одна из них имеет строение:ТАГАДТГГ-ТАЦАЦГТГГТГА... Какое строение будет иметь молекула, когда указанная цепочка достроится до полной двухцепочной молекулы ДНК?

3. Укажите последовательность нуклеотидов участков молекулы м-РНК, образовавшихся на участках гена, в которых нуклеотиды ДНК расположены так:ТЦГЦГААГЦТГГЦТТ АГЦЦГ...
4. Участки молекулы м-РНК имеют следующее строение:ЦГГГТТГЦУУЦУА-ГААЦГАУГАГ... В каком порядке расположатся аминокислоты в соответствующих участках белка, синтезируемого на этой РНК как матрице?
5. Какими последовательностями нуклеотидов м-РНК кодируются последовательности аминокислот белка: ала-асп-глу-гис...
6. Участок гена имеет следующее строение:ЦГГЦГЦТЦААААТЦГ... Укажите строение соответствующего участка того белка, информация о котором содержится в данном гене.
7. Меньшая цепочка мономеров в молекуле инсулина (цепь А) заканчивается аминокислотами: лей-тир-асп-тир-цис-асп. Какой последовательностью нуклеотидов ДНК заканчивается соответствующий ген?
8. Сколькими способами может быть закодирован в генах участок белка из следующих мономеров: про-лиз-гис-вал-тир. если учесть существование «синонимов» в биологическом коде наследственности?
9. С какой последовательности аминокислот начинается белок, если он закодирован последовательностью нуклеотидов:АЦГЦЦАТГГЦЦГТТ... Каким станет начало цепочки аминокислот синтезируемого белка, если под влиянием облучения седьмой нуклеотид окажется выбитым из молекулы ДНК?
10. С какой последовательности аминокислот начинается белок, если он закодирован последовательностью нуклеотидов ДНК:ЦЦТАПТТГААЦЦАГ... Какой станет последовательность аминокислот, если между 6 и 7 нуклеотидом вставить тимин?
11. С какой последовательности аминокислот начинается белок, если он закодирован последовательностью нуклеотидов ДНК:ТЦТЦЦАААААГАТА? Как отразится на строении белка удаление 3, 7 и 8 мононуклеотида?
12. Ионизирующая радиация способна иногда «выбивать» отдельные нуклеотиды из молекулы нуклеиновой кислоты без нарушения ее целостности. Допустим, что из молекулы удален только один нуклеотид, а в другом случае - три нуклеотида подряд, расположенных на некотором расстоянии друг от друга. Как это отразится на белке, синтезируемом на основе наследственной информации, закодированной в такой поврежденной молекуле? В каких случаях образующийся белок будет отличаться от нормального всего сильнее или всего слабее?
13. Код белка гемоглобина у людей, больных серповидноклеточной анемией, имеет следующий состав: ...АЦЦТГТААЦААЦЦАЦГГТТГАГТТГТ..... Назовите аминокислоты и их последовательность в этом фрагменте белка. У здоровых людей с нормальным гемоглобином код цепи ДНК следующий:АЦЦТГТААЦААЦЦАЦГГТАГТАГТТГТ... Назовите аминокислоты и их порядок в этом фрагменте белка. Какое изменение в коде вызывает заболевание? К какому виду изменчивости оно относится?
14. Укажите основные этапы биосинтеза белка в клетке и дайте им краткую характеристику.

Вопросы к экзамену

1. Клетка – элементарная частица живого. Гиалоплазма – внутренняя среда клетки. Ее строение и свойства.
2. Углеводы в образовании надмолекулярных комплексов.
3. Аминокислоты. Строение. Классификация. Свойства. Биологическая роль в образовании белков.
4. Характеристика пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. Строение мононуклеотидов.
5. Современные представления о структуре нуклеиновых кислот. Сходство и различие в строении ДНК и РНК.

6. Первичная структура ДНК. Биологическая роль.
7. Вторичная структура ДНК. Принцип комплементарности в строении ДНК. Биологическая роль.
8. Белки. Характеристика и биологическое значение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры. Фолдинг белков. Зависимость строения белков и их функций.
9. Физико-химические свойства белков. Белки – коллоиды, их амфотерные и буферные свойства. Понятие о нативном белке. Сущность процессов высаливания и денатурации.
10. Строение и роль липидов в образовании биологических мембран.
11. Химическая природа ферментов. Примеры ферментов протеинов и протеидов.
12. Свойства ферментов: термолABILITY, зависимость действия от pH среды, специфичность. Регуляция активности ферментов.
13. Взаимосвязь витаминов, гормонов и ферментов.
14. Структура геномов прокариот. ДНК и РНК содержащие вирусы. Строение нуклеоида. Плазмиды.
15. Современные методы исследования: электрофорез, хроматография.
16. Современные методы исследования: ПЦР-анализ.
17. Строение хромосомы. Белки хроматина. Упаковка ДНК в хромосомах.
18. Структура эукариотических генов. Мозаичная структура генома.
19. Строение и роль рРНК.
20. Строение и роль тРНК.
21. Строение и роль иРНК.
22. Строение и роль рибосом.
23. Виды переноса генетической информации.
24. Биосинтез ДНК.
25. Биосинтез РНК.
26. Созревание пре-мРНК.
27. Биосинтез белка.
28. Основные механизмы клеточной саморегуляции.
29. Регуляции синтеза белка.
30. Механизм действия гормонов пептидной природы.
31. Механизм действия стероидных гормонов.
32. Генетический код.
33. Непостоянство генома.
34. Молекулярные основы мутаций.
35. Подвижные элементы генома.
36. Клеточная и тканевая инженерия растений.
37. Молекулярные основы генетической инженерии.
38. Основные этапы создания трансгенных организмов.
39. Основы промышленного получения первичных (белковые продукты, аминокислоты, гормоны, инсулин, витамины, интерфероны, вакцины, антибиотики) и вторичных метаболитов.
40. Банки нуклеотидных последовательностей, программа «Геном человека».

7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИСПОЛЪЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ

Информационные технологии – обучение в электронной образовательной среде с целью расширения доступа к образовательным ресурсам (теоретически к неограниченному объему и скорости доступа), увеличения контактного взаимодействия с преподавателем, построения индивидуальных траекторий подготовки и объективного контроля и мониторинга знаний студентов.

В образовательном процессе по дисциплине используются следующие информационные технологии, являющиеся компонентами Электронной информационно-образовательной среды БГПУ:

- Официальный сайт БГПУ;
- Система электронного обучения ФГБОУ ВО «БГПУ»;
- Электронные библиотечные системы;
- Мультимедийное сопровождение лекций и практических занятий.
- Мультимедийная обучающая программа «Биохимия с упражнениями и задачами» (электронное приложение к учебнику «Биохимия»: учебник для вузов / под ред. Е. С. Северина. – 3-е изд., испр. – М. : ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 779 с.).

8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ

При обучении лиц с ограниченными возможностями здоровья применяются адаптивные образовательные технологии в соответствии с условиями, изложенными в разделе «Особенности реализации образовательной программы для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья» основной образовательной программы (использование специальных учебных пособий и дидактических материалов, специальных технических средств обучения коллективного и индивидуального пользования, предоставление услуг ассистента (помощника), оказывающего обучающимся необходимую техническую помощь и т. п.) с учётом индивидуальных особенностей обучающихся.

9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ

9.1 Литература

1. Биохимические основы жизнедеятельности человека: учеб. пособие для студ. вузов / [Ю.Б. Филиппович и др.]. – М. : Владос, 2005. – 404, [4] (84 экз.).
2. Коничев, А. С. Молекулярная биология: учебник для студ. вузов, обучающихся по спец. "Биология" / А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова. – 2-е изд., испр. – М.: Академия, 2005. – 396 с. (93 экз.).
3. Иваченко Л. Е. Введение в молекулярную биологию / Л. Е.Иваченко, С. И. Лаврентьева; ФГБОУ ВО БГПУ. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2016. – 108 с. (15 экз.).
4. Иваченко, Л. Е. Современные методы исследования в молекулярной биологии и биотехнологии – учебное пособие / Л. Е. Иваченко, С. И. Лаврентьева. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2017. – 120 с. (15 экз.).
5. Биологическая химия: учеб. пособие для студ. вузов / [Ю. Б. Филиппович [и др.]]; под ред. Н. И. Ковалевской. – М.: Академия, 2009. – 254 с. (5 экз.).
6. Коничев, А. С. Основные термины молекулярной биологии : учеб. пособие для студ. вузов / А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова. – М.: КолосС, 2006. – 187 с. (5 экз.).
7. Кунижев, С. М. Краткий словарь биохимических терминов / С. М. Кунижев. – М.: Вузовская книга, 2005. – 85 с. (5 экз.)
8. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие / В. В. Рогожин. – СПб.: Лань, 2006. – 256 с. (5 экз.).

9.2 Базы данных и информационно-справочные системы

1. Федеральный портал «Российское образование» – <http://www.edu.ru>.
2. Портал Электронная библиотека: диссертации – <http://diss.rsl.ru/?menu=disscatalog>.
3. Портал научной электронной библиотеки – <http://elibrary.ru/defaultx.asp>.
4. Сайт о химии <http://www.xumuk.ru/>
5. Популярная библиотека химических элементов
<https://web.archive.org/web/20161021151915/http://n-t.ru/ri/ps/>
6. Электронная библиотека МГУ по химии <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/>

9.3 Электронно-библиотечные ресурсы

1. Polpred.com Обзор СМИ/Справочник <http://polpred.com/news>.
2. ЭБС «Юрайт» <https://urait.ru>.

10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА

Для проведения занятий лекционного и семинарского типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации используются аудитории, оснащённые учебной мебелью, аудиторной доской, компьютером(рами) с установленным лицензионным специализированным программным обеспечением, коммутатором для выхода в электронно-библиотечную систему и электронную информационно-образовательную среду БГПУ, мультимедийными проекторами, экспозиционными экранами, учебно-наглядными пособиями (таблицы, мультимедийные презентации). Для проведения лабораторных занятий также используется **Учебная лаборатория биологической химии**, укомплектованная следующим оборудованием:

- Комплект аудиторной мебели
- Комплект столов лабораторных
- Пюпитр
- Аудиторная доска
- Компьютер с установленным лицензионным специализированным программным обеспечением
- Мультимедийный проектор
- Экспозиционный экран
- Вертикальная камера для электрофореза (1 шт.)
- КФК-2 (1 шт.)
- Облучатель бактериологический (1 шт.)
- Одноканальная пипетка (4 шт.)
- Весы для уравнивания пробирок (1 шт.)
- Весы лабораторные ЕК-410 (1 шт.)
- Микроскоп «Биолам» (1 шт.)
- Прибор для гельэлектрофореза (2 шт.)
- Термостат (2 шт.)
- Фотоэлектроколориметр (1 шт.)
- Хроматограф (1 шт.)
- Центрифуга (2 шт.)
- Поляриметр (1 шт.)
- Секундомер (1 шт.)
- Спектрофотометр ПЭ- 5400УФ (1 шт.)
- Холодильник LG Electronics (1 шт.)
- Водяная баня (1 шт.)
- Сушильный шкаф (1 шт.)
- Вытяжной шкаф (1 шт.)
- Люксометр (1 шт.)
- рН-метр (1 шт.)
- Прибор для определения удельной активности каталаз газометрическим методом (1 шт.)
- Штативы для пробирок, химическая посуда и нагревательные приборы
- Химические реактивы по тематике лабораторных работ
- Учебно-наглядные пособия, мультимедийные презентации по учебной дисциплине.

Используется также **Лаборатория экологической биохимии и биотехнологии**, укомплектованная следующим оборудованием:

- Амплификатор «AMPLY-4» (2 шт)
- Весы HR-60 (аналитические) (1 шт)
- Видеосистема для регистрации агарозных гелей (1 шт)
- Компьютер (2 шт)
- Настольная центрифуга (2шт)
- Облучатель бактерицидный ОББ-92 У с ламп. (4 шт)
- Облучатель ОБН(2шт)
- Одноканальная пипетка (6 шт)
- Принтер (1 шт)
- МФУ RICOH (1 шт)
- Центрифуга / вортекс ТЕТА 2 (3 шт)
- Источник напряжения для электрофореза (1 шт)
- Набор для обнаружения ДНК лектина LEC ПЦР-ядро. (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК NOS ПЦР-ядро (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК 35 S ПЦР-ядро (1 шт)
- Холодильный агрегат ПГИЖ. 697411.001-01 (1 шт)
- Холодильник «Морозко 3» (1 шт)
- Холодильник (1 шт)
- Термостат TERMO (1 шт).
- Прибор для вертикального электрофореза с охлаждением BIO-RED PROTEAN II-xi Cell (1 шт)
- Прибор для горизонтального электрофореза (1шт)
- Система «ViTran Photo»

Самостоятельная работа студентов организуется в аудиториях оснащенных компьютерной техникой с выходом в электронную информационно-образовательную среду вуза, в специализированных лабораториях по дисциплине, а также в залах доступа в локальную сеть БГПУ, в лаборатории психолого-педагогических исследований и др.

Используемое программное обеспечение: Microsoft®WINEDUpervDVC AllLng Upgrade/SoftwareAssurancePack Academic OLV 1License LevelE Platform 1Year; Microsoft®OfficeProPlusEducation AllLng License/SoftwareAssurancePack Academic OLV 1License LevelE Platform 1Year; Dr.Web Security Suite; Java Runtime Environment; Calculate Linux.

Разработчик: Иваченко Л.Е., доктор биологических наук, профессор кафедры химии.

11 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2023/2024 уч. г.
РПД обсуждена и одобрена для реализации в 2023/2024 уч. г. на заседании кафедры химии (протокол №__ от __ ____.2022 г.). В РПД внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения:	
№ страницы с изменением:	
Исключить:	Включить: